



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ANÁLISE DA RESISTÊNCIA ADESIVA DE UMA RESINA
COMPOSTA AO ESMALTE E DENTINA COM E SEM
CLOREXIDINA E COM E SEM 10-MDP**

Trabalho submetido por
Teresa Mantero Pinheiro de Melo
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2017



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ANÁLISE DA RESISTÊNCIA ADESIVA DE UMA RESINA
COMPOSTA AO ESMALTE E DENTINA COM E SEM
CLOREXIDINA E COM E SEM 10-MDP**

Trabalho submetido por
Teresa Mantero Pinheiro de Melo
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Alexandra Pinto

Trabalho coorientado por
Mestre Inês Carpinteiro

setembro de 2017

Agradecimentos

À Prof. Doutora Alexandra Pinto, por todo o apoio que me deu ao longo da realização deste trabalho, pela sua disponibilidade constante, tranquilidade e pela boa disposição com que sempre me recebeu e incentivou.

À Mestre Inês Carpinteiro, por todo o entusiasmo científico e vontade de aprender que me transmitiu neste último ano, e por estar sempre disponível para ajudar e esclarecer qualquer dúvida. Sem a ajuda das duas não teria sido possível.

Ao Mestre Tomás Amorim, a primeira pessoa que me mostrou que a Medicina Dentária tinha muito para dar, que sempre me apoiou ao longo de todo o curso, muito obrigada.

À Prof. Doutora Ana Azul, pela ajuda com os materiais e por ter sido a primeira pessoa a motivar o meu gosto pela Dentisteria.

Ao Prof. Doutor Luís Proença, pela ajuda essencial e disponibilidade que demonstrou, com o tratamento estatístico dos dados.

Ao Prof. Doutor Mário Polido, pela disponibilização do laboratório de biomateriais.

Aos meus Pais, por me proporcionarem a oportunidade de tirar este curso e aqui conhecer pessoas que levo para a vida. Pela confiança que sempre tiveram em mim, pelo apoio incondicional e pelos valores que me transmitiram e que me fazem querer sempre superar-me. Aos meus Irmãos, por me organizarem as ideias e puxarem por mim, por acreditarem que posso sempre ir mais longe.

Ao António, por ter sido o motor de busca que eu mais usei durante estes meses! Pela ajuda e motivação constantes. Por te teres tornado um grande amigo nos últimos anos, com quem sei que posso contar para a vida.

À Carol e à Caixa, à minha querida box 39, por serem uma presença e fonte de animação constantes no meu dia-a-dia, por fazerem da faculdade um lugar tão bom.

À Matilde, minha colega de box e acima de tudo uma grande amiga. Por me aturares quase 24/7. Por seres um exemplo para mim, a nível profissional e pessoal.

A todos, pelas bombásticas conversas que tivemos, que para sempre me farão rir.

Ao Rodrigo, que apareceu tarde mas esforçou-se diariamente para combater o meu mau feitio (matinal). Pela amizade e companhia.

Ao João, por estes cinco anos de amizade, pelo apoio constante, por me dizeres sempre que vai correr tudo bem.

À *Team Lab 2017*, pela companhia e motivação, por terem tornado mais curtas as horas passadas no laboratório de biomateriais.

À Char, à Mafalda e à Inoca, as amigas de sempre, que me apoiaram nos momentos de indecisão, dúvidas e ansiedades, e que festejaram as pequenas vitórias que fui tendo. Obrigada por continuarem aí.

Resumo

Objetivos: Avaliar a resistência adesiva imediata por microtração (μ TBS) de uma resina composta ao esmalte e dentina, após a aplicação de clorexidina seguida da utilização de um sistema adesivo que contém o monómero funcional 10-MDP.

Materiais e Métodos: Seleccionaram-se 20 molares hígidos, extraídos há menos de 6 meses que foram distribuídos por 4 grupos experimentais. Nos grupos OFL e OFLC, o sistema adesivo utilizado foi o OptibondTM FL, e nos grupos CSE e CSEC o sistema utilizado foi o ClearfilTM SE Bond 2. Nos grupos OFL e CSE seguiram-se as instruções do fabricante para os sistemas adesivos e nos grupos OFLC e CSEC acrescentou-se um passo para aplicação de uma solução de CHX a 2% após o condicionamento com ácido ortofosfórico e previamente à aplicação do *primer* ácido, respetivamente. Todos os dentes foram restaurados com resina FiltekTM Z250 em incrementos de 2mm, com altura final de 6mm. A *smear layer* foi standardizada pelo polimento da superfície com uma lixa de SiC (600 grit).

As amostras foram seccionadas em palitos e armazenadas em água destilada numa estufa a 37°C. Após 24h, os palitos foram submetidos a um teste de microtração a uma velocidade de 1mm/min, até à sua rutura, obtendo-se um valor de resistência adesiva em MPa. As fraturas foram classificadas em adesivas, coesivas de compósito, coesivas de dente ou mistas. Os resultados foram analisados com recurso a um teste ANOVA *two-way*, e teste do Qui-Quadrado ($p \leq 0,05$).

Resultados: Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos testados, quer em esmalte, quer em dentina. Todos os grupos registaram uma maioria de falhas adesivas.

Conclusão: O uso de um pré-tratamento cavitário com CHX, previamente à aplicação de um sistema adesivo à base de 10-MDP, não provoca alterações na resistência adesiva ao esmalte e dentina.

Palavras-chave: clorexidina, 10-MDP, microtração, esmalte, dentina

Abstract

Purpose: To assess microtensile bond strength (μ TBS) of a composite resin to enamel and dentin, after the application of chlorhexidine followed by the use of a 10-MDP based adhesive system.

Materials and Methods: 20 caries-free human molars, extracted less than 6 months before the trial, were distributed by 4 experimental groups. Groups OFL and OFLC were restored using OptibondTM FL, and groups CSE and CSEC using ClearfilTM SE Bond 2. Groups OFL and CSE were restored according to manufacturer's instructions. In groups OFLC and CSEC, after acid etching and before the application of the acidic primer, respectively, a 2% chlorhexidine solution was applied for 60 seconds. All teeth were restored with FiltekTM Z250 after the adhesive protocols, with 2mm increments, in order to obtain a 6mm thick restoration. The smear layer was simulated by polishing with a 600 grit SiC abrasive paper.

After restoration, the teeth were sectioned into beams and then stored in distilled water for 24h prior to μ TBS testing at a crosshead speed of 1mm/min. The values of strength were registered as the beams fractured, and then converted into adhesive resistance values in MPa. The failures were classified in adhesive, cohesive in composite, cohesive in tooth and mixed. The results were statistically analyzed by two-way ANOVA and a Chi-Square test ($p \leq 0,05$).

Results: There are no significant differences in μ TBS values between tested groups, either in enamel or dentin. In all groups, there was a majority of adhesive failures.

Conclusion: Performing a cavity pre-treatment with chlorhexidine prior to the application of an MDP-based dental adhesive system doesn't influence the immediate microtensile bond strength to enamel and dentin.

Key words: chlorhexidine, 10-MDP, microtensile, enamel, dentin

Índice Geral

I. Introdução	13
1. Composição e Estrutura do Esmalte e Dentina.....	13
2. Adesão e Sistemas Adesivos	14
2.1. Sistemas Adesivos <i>Etch-and-Rinse</i>	17
2.2. Sistemas Adesivos <i>Self-Etch</i>	19
2.3. Sistemas Adesivos Universais	21
3. Monómeros presentes nos sistemas adesivos.....	22
3.1. 10-MDP	23
4. Degradação da Interface Adesiva.....	24
4.1. Degradação por Enzimas Colagenolíticas	25
4.2. Estratégias de Inibição da Degradação da Interface Adesiva	26
5. Clorexidina	28
5.1. Estrutura Química	28
5.2. Aplicação e Mecanismo de Ação.....	28
5.3. Formulações.....	29
5.4. CHX no Campo da Adesão.....	29
6. Avaliação da Resistência Adesiva <i>in vitro</i>.....	31
6.1. Norma ISO/TS 11405:2015	31
6.2. Microtração	31
7. Enquadramento do Estudo	32
II. OBJETIVOS DO ESTUDO	33
III. HIPÓTESES DO ESTUDO	33
IV. MATERIAIS E MÉTODOS	35
1. Amostra de estudo.....	35
2. Materiais	35
3. Preparação das Amostras.....	37
4. Testes de Microtração.....	43
5. Análise Estatística	44
V. RESULTADOS	47
1. Análise da resistência adesiva (μTBS)	47

1.1.	Análise da resistência adesiva (μ TBS) no esmalte	47
1.2.	Análise da resistência adesiva (μ TBS) na dentina.....	48
2.	Análise do tipo de fratura obtido.....	49
2.1.	Análise do tipo de fratura obtido nos grupos de esmalte	49
2.2.	Análise do tipo de fratura obtido nos grupos de dentina	50
VI.	DISCUSSÃO.....	53
VII.	CONCLUSÃO	63
1.	Relevância Clínica.....	63
2.	Perspectivas Futuras	64
VIII.	BIBLIOGRAFIA	65

Índice de Figuras

Figura 1 - Ilustração das diversas estratégias adesivas	16
Figura 2 - Estrutura química do 10-MDP	23
Figura 3 - Mecanismo de ligação dos 10-MDP à hidroxiapatite - <i>nanolayering</i>	24
Figura 4 - Estrutura química da CHX	28
Figura 5 - Imagem exemplificativa da amostra	35
Figura 6 - Micrótomo de tecidos duros – Accutom-50, Struers A/S, Ballerup, Denmark.....	37
Figura 7 - Corte dos dentes	37
Figura 8 - Remoção dos tecidos da câmara pulpar	38
Figura 9 - LabolPol-4, Struers A/S, Ballerup, Denmark.....	38
Figura 10 - Simulação da <i>smear layer</i>	38
Figura 11 - Protocolo de preparação dos grupos OFL e OFLC	41
Figura 12 - Protocolo para a preparação dos grupos CSE e CSEC.....	41
Figura 13 - Fotopolimerizador Elipar™ DeepCure S (3M, St. Paul, MN, USA)...	42
Figura 14 - Estufa (Mettler INE 400, Mettler, Germany).....	43
Figura 15 - Máquina de testes universal (Shimadzu Autograph AG-IS, Tokyo, Japan)	43
Figura 16 - Ilustração exemplificativa dos tipos de falha	44
Figura 17 - Médias (MPa) e desvios-padrão dos grupos de esmalte	48
Figura 18 - Médias e desvios-padrão dos grupos de dentina	49
Figura 19 - Percentagem do tipo de fratura obtido por grupo - Esmalte	50
Figura 20 - Percentagem do tipo de fratura obtido por grupo – Dentina	51

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Materiais Utilizados - composição e especificações técnicas	36
Tabela 2 - Preparação do Grupo OFL – Optibond™ FL	39
Tabela 3 - Preparação do Grupo OFLC– Optibond™ FL + CHX a 2%.....	39
Tabela 4 - Preparação do Grupo CSE – Clearfil™ SE Bond 2	40
Tabela 5 - Preparação do Grupo CSEC - Clearfil™ SE Bond 2 + CHX a 2%	40
Tabela 6 - Instruções do fabricante para a Resina Composta Filtek™ Z250	42
Tabela 7 - Médias e desvios-padrão dos grupos de esmalte	47
Tabela 8 - Médias e desvios-padrão dos grupos de dentina	48
Tabela 9 - Contabilização do tipo de fraturas obtido por grupo – Esmalte.....	49
Tabela 10 - Teste do Qui-Quadrado - Esmalte.....	50
Tabela 11 - Contabilização do tipo de fraturas obtido por grupo – Dentina	51
Tabela 12 - Teste do Qui-Quadrado - Dentina	51

Lista de Abreviaturas

10-MDP – 10-Metacriloiloxidecil dihidrogenofosfato
Bis-GMA – bisfenol glicidil metacrilato
BHT – butilhidroxitolueno (inibidor)
CHX – clorexidina
GDFM – dimetacrilato de glicerol fosfato
HEMA – hidroxiletil metacrilato
MDPB – 12-metacriloiloxidodecilpiridinio
MMP – metaloproteinases da matriz
ODMAB – 2-(etilhexil)-4-(dimetilamino)benzoato (co-iniciador)
TEGDMA – dimetacrilato de trietileno glicol
UDMA – dimetacrilato de uretano

I. Introdução

1. Composição e Estrutura do Esmalte e Dentina

O esmalte e a dentina, bem como ocasionalmente o cimento radicular, representam os tecidos duros do dente, que irão receber o material restaurador. Todos estes tecidos têm características morfológicas que partem de uma base de constituintes semelhante, mas ocorrendo em proporções diferentes (Nanci, 2013).

O esmalte tem um conteúdo inorgânico superior, cerca de 96% em peso (Goldberg, Kulkarni, Young & Boskey, 2011; Nanci, 2013), maioritariamente constituído por cristais de hidroxiapatite, enquanto a dentina possui uma quantidade substancial de água e conteúdo orgânico, que no esmalte representam apenas 4% (Nanci, 2013). O esmalte é constituído por prismas na sua estrutura básica, que apresentam uma orientação perpendicular à superfície da dentina, ou seja, cervicalmente terão uma orientação praticamente horizontal, verticalizando-se à medida que se aproximam das pontas das cúspides (Nanci, 2013). O elevado conteúdo inorgânico do esmalte torna-o um tecido altamente rígido, mas também quebradiço, o que ilustra a importância da dentina. Esta, mais resiliente, absorve o impacto das forças que atuam sobre o esmalte, tornando assim resistente o complexo amelo-dentinário (Nanci, 2013).

Para além do elevado conteúdo orgânico (20%) e de água (10%), a dentina, à semelhança do esmalte, possui também uma matriz com cristais de hidroxiapatite que é, no entanto, atravessada por milhares de túbulos dentinários, cujo diâmetro varia entre 2 e 4 micrómetros (Goldberg *et al.*, 2011; Nanci, 2013), e que estabelecem a comunicação com a polpa dentária, formando-se o complexo pulpo-dentinário. No interior destes túbulos encontram-se extensões citoplasmáticas de células denominadas odontoblastos – localizadas na periferia da polpa – que são responsáveis pela formação de dentina (Nanci, 2013). A maior parte da componente orgânica da dentina é constituída por colagénio (tipo I na maioria) e o restante é constituído por outras proteínas e lípidos (Goldberg *et al.*, 2011; Nanci, 2013). O colagénio serve como uma matriz na qual se depositará o conteúdo mineral e as restantes proteínas e lípidos são responsáveis pela regulação desta mesma deposição (Nanci, 2013). Existem três tipos de dentina. A dentina primária, que é a primeira a formar-se e corresponde à grande maioria da dentina total (Nanci, 2013), e a

sua deposição ocorre até o dente entrar em função, obtendo contatos com os seus antagonistas (Goldberg *et al.*, 2011). A dentina secundária é formada após a formação completa da raiz do dente e tem uma taxa de deposição muito mais lenta que a anterior, além de não uniforme ao longo de toda a superfície (Nanci, 2013). A dentina terciária, também chamada de dentina reparadora ou reacionária é produzida somente como resposta a um estímulo (e pelas células diretamente afetadas), seja ele cárie, desgaste dentário ou ainda instrumentação iatrogênica (Nanci, 2013; Heymann, Swift, Ritter & Sturdevant, 2013; Hilton, Ferracane & Broome, 2013). A forte componente orgânica e a água na dentina tornam complicada a adesão dos materiais restauradores a este tecido (Perdigão, 2007).

Um conhecimento aprofundado pela parte do médico dentista da estrutura funcional e composição dos tecidos dentários é um aspecto essencial à prática clínica, permitindo a confecção de restaurações com longevidade adequada e que preconizem o biomimetismo (Cohen, 2010).

2. Adesão e Sistemas Adesivos

O conceito de adesão é vasto e aplicável em múltiplas áreas, mas parte sempre da mesma base, que consiste na atração entre dois materiais diferentes. A adesão pode ocorrer por ligação química, física ou mecânica. Das três, a adesão física é a mais fraca, mas é a que está sempre presente. A adesão química será providenciada ora por ligações químicas primárias (covalentes, iônicas, metálicas), que são mais resistentes, ora por ligações químicas secundárias (pontes de Hidrogênio e ligações de Van der Waals). Quanto à adesão mecânica, esta é regularmente obtida e implica algum tipo de interligação mecânica entre materiais (Hilton *et al.* 2013; Marshall, Bayne, Baier, Tomsia & Marshall, 2010).

Em Medicina Dentária especificamente, o conceito de adesão aplica-se à união entre dente e material restaurador, ou entre materiais restauradores. Esta área mantém-se um desafio da atualidade, com inúmeras investigações a serem desenvolvidas neste âmbito, dado que o sucesso na adesão se traduz num consequente sucesso clínico do procedimento restaurador. A adesão dos materiais restauradores pode ser tanto mecânica como química, dependendo do tipo de adesivo e material restaurador (von Fraunhofer, 2012).

A adesão à estrutura dentária foi revolucionada por Buonocore em 1955, com a introdução do condicionamento ácido à superfície do esmalte, de modo a melhorar a resistência da ligação entre dente e material restaurador, evitando assim o recurso ao modelo tradicional de uma preparação cavitária pouco conservadora. Com este marco iniciou-se a era da dentisteria adesiva (Sezinando, 2014).

Atualmente, aliado a este condicionamento ácido utiliza-se um sistema adesivo, que pretende conferir retenção a restaurações em resina composta ou a cimentos resinosos (Van Landuyt *et al.*, 2007). Um sistema adesivo pode apresentar-se sob várias formas mas existem certos componentes comuns a todos estes sistemas, sendo eles monómeros de resina, iniciadores de polimerização, inibidores ou estabilizadores da polimerização, solventes e ocasionalmente partículas de carga (Van Landuyt *et al.*, 2007). Um sistema adesivo é assim constituído geralmente por um ácido, um *primer* (ácido ou não) e um adesivo, ou *bond*. Estes podem apresentar-se em frascos separados ou em frascos conjuntos, dependendo da técnica adesiva (Anusavice, Shen & Rawls, 2013).

O condicionamento ácido como supramencionado, foi inicialmente desenvolvido para aplicação exclusiva no esmalte. Contudo, Fusayama em 1979, desafiou este conceito e levou-o à dentina, o que anteriormente fora considerado indesejável, uma vez que o substrato era orgânico e o processo poderia ser potencialmente lesivo para a polpa. Hoje, está protocolada a aplicação de ácido tanto no esmalte como na dentina, uma vez que há evidência que este condicionamento ácido confere a ambos uma vantagem nas propriedades adesivas do futuro material restaurador (Fusayama, 1979; Kanca, 1991).

O ácido geralmente utilizado é o ácido ortofosfórico a 35-37%. Este agente condicionante produz padrões distintos de desmineralização no esmalte. O tipo I, o mais observado, consiste na desmineralização dos prismas de esmalte, enquanto no tipo II há desmineralização preferencial do esmalte interprismático e no tipo III, o menos frequente, ocorre uma desmineralização mais irregular (Heymann *et al.*, 2013; Hilton *et al.*, 2013; Nanci, 2013). O agente ácido remove iões de fosfato de cálcio, desenvolvendo microporosidades na superfície do esmalte e dentina, que posteriormente serão infiltradas por monómeros resinosos, conduzidos pelo *primer* e adesivo, produzindo-se uma zona de interdifusão, com formação da camada híbrida, uma matriz resinosa reforçada por fibrilas

de colagénio da dentina (Nakabayashi, Kojima & Masuhara, 1982; Van Meerbeek *et al.*, 2003; Pashley *et al.*, 2011; Heymann *et al.*, 2013).

Uma das classificações possíveis dos sistemas adesivos atuais depende do seu efeito sobre a *smear layer*, uma camada de detritos provocada pelo corte e instrumentação da estrutura dentária, incluindo na sua constituição restos de fibras de colagénio, hidroxiapatite e bactérias (Van Meerbeek *et al.*, 2003; Eliades, Watts & Eliades, 2005). Esta camada vai constituir um obstáculo à adesão, devendo por isso ser retirada, o que acontece com os sistemas adesivos denominados *etch-and-rinse*, ou incorporada, como nos sistemas *self-etch*. (Anusavice *et al.*, 2013; Perdigão, 2007). Nos sistemas *etch-and-rinse* a aplicação de ácido seguida de lavagem e secagem é eficaz na remoção da *smear layer*, enquanto que nos sistemas *self-etch*, como não existe etapa de condicionamento ácido em separado com lavagem, esta acaba por ser incorporada na camada híbrida resultante (Anusavice *et al.*, 2013). A estas duas categorias adiciona-se a dos sistemas adesivos universais, ou multimodo, que são sistemas simplificados, com múltiplas utilizações clínicas e possíveis de utilizar com ambas as técnicas, *self-etch* ou *etch-and-rinse* (Hilton *et al.*, 2013; Alex, 2015). As estratégias adesivas encontram-se resumidas na Figura 1.

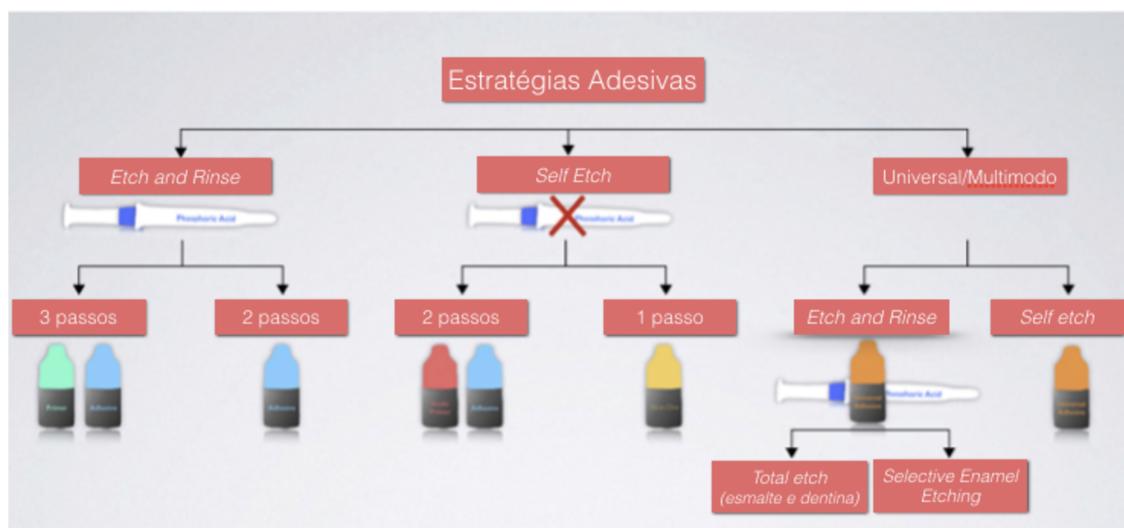


Figura 1- Ilustração das diversas estratégias adesivas (Adaptado de Sezinando, 2014)

São necessários certos critérios para que uma adesão tenha longevidade clínica no meio oral: o adesivo deve molhar a superfície do dente, permitindo que haja uma interligação entre as estruturas, a interface adesiva deve estar livre de stress e também de

contaminação, sendo esta a principal causa de falha das restaurações, que ocorre por problemas na integridade marginal (Sezinando, 2014; Van Landuyt et al., 2007).

2.1. Sistemas Adesivos *Etch-and-Rinse*

Os sistemas adesivos deste tipo pressupõem a utilização isolada de ácido ortofosfórico, previamente à aplicação de sistema adesivo. O condicionamento da superfície com ácido ortofosfórico permite, além da criação de microporosidades, a remoção da *smear layer*, proporcionando um acesso facilitado dos monómeros resinosos a estas microporosidades (Van Meerbeek *et al.*, 2003; Anusavice *et al.*, 2013). O condicionamento ácido provoca a remoção da totalidade do conteúdo mineral da dentina da superfície e imediatamente subjacente, obtendo-se um substrato constituído por 70% de água (combinação do conteúdo intrínseco e da água que se aloja ao enxaguar após condicionamento ácido) e 30% de colagénio. Estes 70% de água seriam idealmente substituídos por monómeros resinosos, com formação da camada híbrida (Pashley *et al.*, 2011).

Os sistemas adesivos *etch-and-rinse* podem apresentar-se sob a forma de 3 passos ou 2 passos. Nos sistemas de 3 passos procede-se à aplicação de ácido ortofosfórico, a 30-40%, sobre o esmalte e dentina, seguida de um *primer* (um agente promotor da adesão) e finalmente um adesivo, ou *bond*. Nos sistemas de 2 passos, o *primer* e o adesivo são administrados em conjunto, vindo num só frasco (Van Meerbeek *et al.*, 2003; Van Meerbeek *et al.*, 2010; Anusavice *et al.*, 2013).

Uma vez que a dentina é considerada um substrato orgânico, a sua preparação é diferente da do esmalte, onde a simples criação de porosidades permite a infiltração adequada de monómeros resinosos, obtendo-se uma retenção micromecânica de boa qualidade (Van Meerbeek *et al.*, 2010). Após a aplicação do ácido na dentina, este expõe a rede de colagénio e desmineraliza os túbulos e a matéria mineral (Heymann *et al.*, 2013). Este substrato exposto imediatamente após o condicionamento ácido não é favorável à aplicação de resina adesiva uma vez que ocorre um colapso das fibras de colagénio, diminuindo aquilo a que se chama a energia de superfície e também a molhabilidade, duas propriedades diferentes, mas intrinsecamente relacionadas. A última propriedade entende-se como a capacidade de um líquido formar uma interface sobre uma superfície

sólida, a qual depende da energia de superfície do líquido e da natureza e condição do substrato (von Fraunhofer, 2012). A energia de superfície é a força de atração intermolecular que existe na superfície do material direcionada para o seu interior, por exemplo a força coesiva do próprio adesivo. Quanto menor a energia de superfície do adesivo, maior a molhabilidade deste no substrato (Olivi & Olivi, 2015; von Fraunhofer, 2012).

Inicialmente, com este tipo de sistemas adesivos, era preconizada uma estratégia de secagem prolongada e completa do substrato dentário após a lavagem do ácido – *dry bonding*. Hoje, sabe-se que esta estratégia é prejudicial à adesão dentinária, pois provoca o colapso da matriz de colagénio que irá receber o sistema adesivo. Havendo o colapso das fibras de colagénio, não se consegue a difusão correta dos monómeros adesivos para a formação de uma camada híbrida adequada e durável (Hilton *et al.*, 2013). Assim, defende-se atualmente a técnica de *wet bonding*, introduzida por Kanca em 1992, que preconiza que a adesão deve ser feita sobre uma superfície húmida. Com a sua investigação, Kanca (1992) demonstrou que os resultados adesivos são superiores quando a superfície dentinária se encontra relativamente molhada, após uma secagem leve posterior ao condicionamento ácido. A adesão sobre uma superfície húmida torna-se possível pela incorporação de solventes como o etanol e a acetona, que provocam um deslocamento da água da superfície, permitindo uma infiltração dos monómeros adesivos na rede de colagénio (Heymann *et al.*, 2013). De modo a manter a superfície húmida pode, alternativamente, efetuar-se a secagem com papel absorvente ou “re-molhar” a mesma com um algodão húmido ou com um agente como a clorexidina líquida, beneficiando das suas propriedades antimicrobianas e capacidade de manter a estabilidade da adesão a longo prazo (Hilton *et al.*, 2013). O etanol foi também sugerido como agente para a realização do *wet bonding*, observando-se até melhores resultados adesivos do que quando realizado com água, sendo que a realização da técnica com etanol é relativamente demorada e sensível à técnica (Pashley *et al.*, 2007; Kuhn *et al.*, 2015).

De modo a haver infiltração adequada de resina do adesivo no substrato dentinário este tem que ser sujeito à aplicação de um *primer*. O *primer* consiste numa solução de monómeros com solventes como etanol, água e acetona. Geralmente, os solventes permitem o deslocamento da água superficial após o condicionamento ácido, possibilitando a infiltração dos monómeros resinosos na matriz de colagénio. Esta

solução apresenta grupos hidrofílicos, que permitem a sua infiltração num substrato hidratado que é a dentina, e grupos hidrofóbicos que permitem a sua ligação com os monómeros resinosos que posteriormente infiltrarão a rede de colagénio dentinária. Numa situação perfeita, haveria a total substituição da água por monómeros, o que não é possível, obtendo-se uma camada híbrida com espaços vazios (Hilton *et al.*, 2013; Perdigão, Reis & Loguercio, 2013).

Após a utilização do *primer*, segue-se a aplicação do adesivo. Este adesivo, ou *bond*, é uma resina fluida cuja função principal é preencher os espaços interfibrilares da rede de colagénio exposta. Assim, obtém-se uma adesão micromecânica, pela substituição do material inorgânico do dente, previamente condicionado, pelos monómeros de resina que se difundem e ficam interligados nas retenções após polimerização, num processo que se designa por hibridização (Van Meerbeek *et al.*, 2003). Esta camada híbrida, com *tags* resinosos, é composta por colagénio, monómeros de *primer* e adesivo, após a polimerização (Anusavice *et al.*, 2013).

O facto de o condicionamento ácido ser realizado num passo separado torna estes sistemas adesivos mais sensíveis à técnica. Um tempo excessivo de condicionamento pode causar uma desmineralização demasiado profunda da superfície dentária, o que não permite que haja uma infiltração correta do adesivo e consequente proteção das fibras de colagénio desmineralizadas (Hashimoto, Nagano, Endo & Ohno, 2011).

2.2. Sistemas Adesivos *Self-Etch*

Os sistemas adesivos deste tipo dispensam a aplicação separada de ácido ortofosfórico, reduzindo-se o número de passos clínicos e facilitando consequentemente a técnica do operador (Van Meerbeek *et al.*, 2003; Hashimoto *et al.*, 2011). Estes sistemas adesivos têm um *primer* ácido, pelo que a desmineralização do substrato e a infiltração de resina ocorrem simultaneamente e há uma incorporação da *smear layer* (Hilton *et al.*, 2013). Estes sistemas apenas dissolvem a *smear layer* mas ocorre uma manutenção do seu conteúdo mineral, dado que não há uma etapa que inclua a lavagem do substrato condicionado (Van Meerbeek *et al.*, 2010). Há por isso, com a utilização dos sistemas *self-etch*, uma diminuição do risco de obter uma profundidade de desmineralização excessiva (*over-etching*), que não seja completamente infiltrada pelos monómeros. Os

sistemas deste tipo podem apresentar-se sob a forma de 2 passos e 1 passo (Sezinando, 2014).

Os sistemas de 2 passos são constituídos por um *primer* ácido e um adesivo, separadamente. Os sistemas de 1 passo contêm, num frasco só, o *primer* ácido e o adesivo (Van Meerbeek *et al.*, 2011; Sezinando, 2014; Anusavice *et al.*, 2013).

Os adesivos *self-etch* podem ser classificados conforme o seu pH, variando a classificação entre: forte (pH inferior a 1), os quais provocam uma desmineralização de alguns micrómetros; moderada (pH entre 1 e 2), com desmineralização entre 1 e 2 micrómetros; suave (pH de cerca de 2), com desmineralização de 1 micrómetro, nos quais se inclui o ClearfilTM SE Bond (Kuraray Noritake Dental); e, por fim, ultra-suave (pH superior a 2,5), que apenas provoca uma profundidade de desmineralização de alguns nanómetros (Van Meerbeek *et al.*, 2011; Sezinando, 2014). Os sistemas do tipo suave parecem ser a melhor abordagem ao substrato dentinário (Van Meerbeek *et al.*, 2011).

Por apenas dependerem de um *primer* ácido para obter as microporosidades necessárias à adesão micromecânica, os sistemas *self-etch* não produzem uma desmineralização tão profunda como o condicionamento com ácido ortofosfórico (Erickson, Barkmeier & Latta, 2009) e como tal observa-se uma resistência adesiva inferior destes adesivos no esmalte, em comparação com os *etch-and-rinse* (Perdigão & Geraldini, 2003). Assim, é recomendado um condicionamento ácido seletivo à superfície do esmalte (Sezinando, 2014).

Os sistemas adesivos deste tipo contêm água na sua composição, numa percentagem relativamente elevada, no sentido de permitir a ionização dos monómeros ácidos, necessária para terem atividade condicionante (Van Landuyt *et al.*, 2007; Van Meerbeek *et al.*, 2011). Esta característica torna estes sistemas adesivos menos sensíveis à humidade do substrato dentário, quando comparados com os sistemas *etch-and-rinse* (Sezinando, 2014). Contudo, e especialmente nos sistemas de um só passo, o elevado conteúdo em água torna-os mais suscetíveis à degradação hidrolítica da interface adesiva com consequente perda de resistência adesiva (Van Landuyt *et al.*, 2009; Sezinando, 2014).

A utilização destes sistemas adesivos na dentina pode ser benéfica no sentido da diminuição da sensibilidade pós-operatória, já que ocorre uma incorporação da *smear layer* (Sezinando, 2014). A adesão à dentina com os sistemas adesivos *self-etch* ocorre tanto pelo encaixe micromecânico com *tags* resinosos, como pela adesão química entre

os monómeros funcionais (como o 10-MDP) contidos nestes adesivos e a hidroxiapatite (Sezinando, 2014).

2.3. Sistemas Adesivos Universais

Estes sistemas adesivos, também chamados de multimodo, são os sistemas mais simplificados, sendo constituídos por uma só solução, que funciona como *primer* autocondicionante e adesivo. Os sistemas adesivos universais, na maioria dos casos, podem ser utilizados tanto numa abordagem *etch-and-rinse* como *self-etch* ou até apenas com condicionamento ácido seletivo ao esmalte (Hilton *et al.*, 2013; Perdigão & Loguercio, 2014; Sezinando, 2014). Estes sistemas adesivos têm, segundo os seus fabricantes, um amplo espectro de utilizações (Sezinando, 2014), já que possuem a capacidade de atuar também como *primers* de metais, zircónia e cerâmicas, podendo excluir a necessidade do uso de um *primer* em separado (Alex, 2015). Assim, os sistemas adesivos universais devem ser capazes de reagir com inúmeros substratos, tendo características hidrofílicas para permitir a sua interação com a dentina, mas também suficientemente hidrofóbicas para impedir a infiltração de água posterior à polimerização. Contudo, e para manter a sua capacidade de atuar como *self-etch* estes sistemas adesivos têm uma percentagem elevada de água na sua constituição, o que potencia a hidrólise e degradação da interface adesiva (Alex, 2015).

Os sistemas adesivos multimodo obtêm melhores resultados adesivos quando utilizados sobre a dentina como um *self-etch*, dado que é vantajoso que se mantenha uma quantidade de hidroxiapatite para a interação química (através de monómeros funcionais, com grupos fosfato) com este adesivo (Perdigão *et al.*, 2014; Sezinando, 2014). Em relação ao esmalte, o condicionamento ácido seletivo deste tecido é recomendado, já que os sistemas universais apresentam resultados superiores de adesão ao esmalte condicionado (Perdigão, Sezinando & Monteiro, 2012; Perdigão *et al.*, 2014).

A aplicação ativa deste tipo de sistemas adesivos revela-se vantajosa no que toca à resistência adesiva (Perdigão *et al.*, 2014).

3. Monómeros presentes nos sistemas adesivos

Os monómeros dos sistemas adesivos são classificados em monómeros funcionais e monómeros reticulados (Van Landuyt *et al.*, 2007).

Os monómeros funcionais têm pelo menos um grupo polimerizável e um grupo funcional, com uma cadeia “espaçadora” entre si, cujo comprimento pode influenciar as propriedades destes monómeros (Van Landuyt *et al.*, 2007; Feitosa *et al.*, 2014). Formam cadeias poliméricas lineares, enquanto os monómeros reticulados apresentam dois grupos polimerizáveis, formando polímeros reticulados, como que ramificados, com mais resistência mecânica. Os grupos polimerizáveis mais comuns são os acrilatos e os metacrilatos (Van Landuyt *et al.*, 2007). Existem ainda monómeros que exibem características dos dois grupos, com vários grupos polimerizáveis e pelo menos um grupo funcional (Van Landuyt *et al.*, 2007).

Os grupos funcionais dos monómeros funcionais têm características hidrofílicas e podem atuar no sentido de melhorar a molhabilidade e desmineralização da dentina, bem como possuir atividade antibacteriana ou libertar flúor. Os grupos funcionais mais comuns são os grupos fosfato, ácido carboxílico e álcool (Van Landuyt *et al.*, 2007). Os grupos funcionais capazes de libertar prótons, como os grupos carboxilo e fosfato, têm a capacidade de ligação ao cálcio presente nos cristais de hidroxiapatite do esmalte e dentina (Van Landuyt *et al.*, 2008). Além das funções anteriormente referidas, estes monómeros podem ter a capacidade, concentração-dependente, de desmineralizar a superfície do dente (Van Landuyt *et al.*, 2007). A atuação dos monómeros funcionais sobre a estrutura dentária é clarificada pelo conceito da “Adesão-Descalcificação”. De acordo com esta teoria, o grupo funcional forma inicialmente uma ligação iônica com o cálcio da hidroxiapatite, sendo que a estabilidade desta união vai determinar se em seguida ocorrerá uma descalcificação do substrato ou, no caso de ser estável, uma adesão química com o cálcio (Yoshida *et al.*, 2001; Van Landuyt *et al.*, 2008).

Exemplos de monómeros reticulados muito comuns presentes nos sistemas são o bisfenol A diglicidil metacrilato (bis-GMA), o uretano dimetacrilato (UDMA) (Van Landuyt *et al.*, 2007). Relativamente aos monómeros funcionais, dois dos mais comuns são o hidroxietil metacrilato (HEMA) e o 10-metacrilóiloxidecil di-hidrogenofosfato (10-MDP), sendo que foi com este último que se assistiu à valorização da adesão química nos sistemas adesivos atuais (Fukeygawa *et al.*, 2006; Van Landuyt *et al.*, 2007; Sezinando, 2014)

3.1. 10-MDP

Este monómero funcional foi inicialmente desenvolvido e patenteado pela casa comercial Kuraray Noritake Dental Inc. (Tokyo, Japan), tornando-se o seu uso generalizado por outras marcas com o término da patente (Van Landuyt *et al.*, 2007; Sezinando, 2014). Este monómero é anfifílico, contém numa das suas extremidades um grupo funcional fosfato – polar e capaz de interação química com a hidroxiapatite, mas também com metais e zircónia – e na outra um grupo polimerizável de metacrilato – hidrofóbico e capaz de ligar-se a outros grupos metacrilato de materiais restauradores (Figura 2) (Van Landuyt *et al.*, 2008; Alex, 2015).

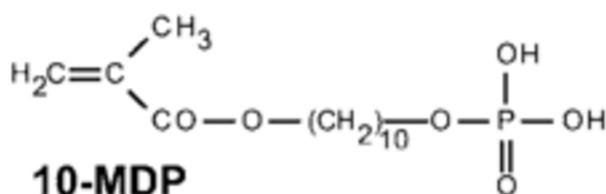


Figura 2 - Estrutura química do 10-MDP (Yoshida *et al.*, 2004)

Em comparação com outros monómeros funcionais, como o 4-MET (ácido 4-metacriloxietil trimetilico) ou fenil-P (2- metacriloxietil fenil hidrogenofosfato), é o 10-MDP que até agora regista melhor estabilidade e melhores resultados de resistência adesiva (Yoshida *et al.*, 2004; Fukegawa *et al.*, 2006; Van Landuyt *et al.*, 2007; Sezinando, 2014). A atuação deste monómero sobre o substrato dentário dá-se de acordo com o conceito da “Adesão-Descalcificação” previamente descrito (Yoshida *et al.*, 2004).

A elevada estabilidade de ligação do MDP à hidroxiapatite é explicada pela formação de estratos de cerca de 4 nanómetros (nm) de espessura, observada por Yoshihara *et al.* em 2010 e 2011, ao contrário do que acontece com os monómeros fenil-P e 4-MET. A formação destes estratos foi inicialmente demonstrada por Yoshihara *et al.* em 2010 utilizando como substrato pó de hidroxiapatite, e validada para o esmalte e dentina naturais por Yoshihara *et al.* em 2011. Inicialmente formam-se ligações estáveis entre o MDP e o cálcio, enquanto simultaneamente ocorre a desmineralização da hidroxiapatite superficial. A partir do momento em que iões cálcio suficientes são extraídos da superfície, formam-se sais de cálcio-MDP, acumulando-se em cristais à superfície da hidroxiapatite, num fenómeno denominado *nanolayering*, ilustrado na Figura 3. Cada camada consiste então em duas moléculas de MDP, com os seus grupos polimerizáveis

(metacrilato) orientados um para o outro e os seus funcionais para direções opostas (Yoshihara *et al.*, 2010). Entre cada camada depositam-se sais de cálcio que permitem que as camadas se mantenham unidas (Yoshihara *et al.*, 2011). Esta estrutura é altamente hidrofóbica, o que se prova benéfico no controlo da degradação hidrolítica da camada adesiva, obtendo-se então uma proteção direta contra a entrada de água e provavelmente também torna a hidroxiapatite mais resistente à dissolução por ácidos (Yoshihara *et al.*, 2010).

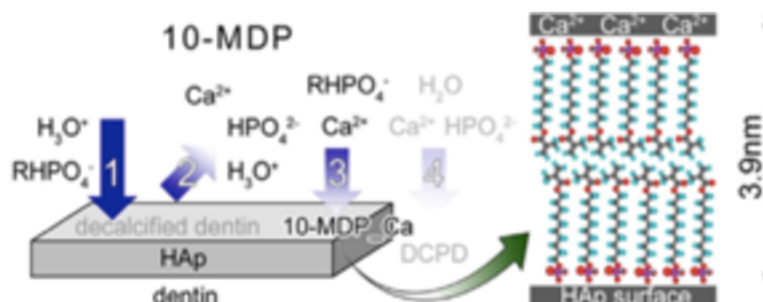


Figura 3 - Mecanismo de ligação dos 10-MDP à hidroxiapatite - *nanolayering* (Yoshihara *et al.*, 2010)

4. Degradação da Interface Adesiva

É do conhecimento geral que a resistência adesiva da restauração a resina composta diminui ao longo do tempo, especialmente no substrato dentinário (Munck *et al.*, 2003). A camada híbrida resultante de adesivos *etch-and-rinse* de 2 passos contém altas percentagens de monómeros hidrofílicos. Isto resulta na formação de uma interface porosa que permite a absorção de água, hidrólise da resina, aumento volumétrico dos polímeros e consequente diluição dos monómeros. Esta interface adesiva pode vir a ser degradada por várias formas (Breschi *et al.*, 2009). A degradação pode ser hidrolítica, pode advir de enzimas que degradam o colagénio, ou pode ser resultante de defeitos do colagénio, por exposição deste e sua consequente degradação (Perdigão *et al.*, 2013).

Sabe-se que a substituição de água na interface adesiva pelos monómeros de resina nunca é completa (e ideal), devido à presença de resíduos de solventes e de fluido dentinário, observando-se zonas ricas em água e pobres em resina, num fenómeno designado por nanoinfiltração (Pashley *et al.*, 2011). Armstrong *et al.*, verificaram em 2004 que, após armazenamento de amostras usadas na investigação a longo prazo, havia alterações da camada híbrida a nível morfológico, devidas à hidrólise dos tecidos orgânicos ou a alterações das propriedades das resinas. A água residual que permanece

na camada híbrida torna-se num meio que favorece a hidrólise da matriz de resina por esterases e a degradação do colagénio por enzimas colagenolíticas endógenas e exógenas (Liu *et al.*, 2011). Esta água residual é geralmente incorporada por adesivos *etch-and-rinse*, dado que estes adesivos têm uma etapa de lavagem após o ácido, e sempre que se utilizam sistemas adesivos com alto teor de monómeros hidrofílicos, atraindo água (Breschi *et al.*, 2009)

A degradação dos monómeros de resina ocorre pela hidrólise pela água residual, bem como por hidrólise enzimática. A diminuição da capacidade de impregnação dos monómeros com o aumento da profundidade da desmineralização, leva a formação de uma camada híbrida menos resistente (Perdigão *et al.*, 2013). Esta acaba por diminuir as propriedades físicas dos polímeros e numa última instância levam à plastificação do adesivo e a forças adesivas substancialmente menores (Ito *et al.*, 2005; Perdigão *et al.*, 2013).

O tipo de sistema adesivo utilizado também poderá ter influência no grau de degradação, sendo que, por exemplo, os sistemas *self-etch*, por serem hidrofílicos possuem a capacidade de atrair água, além da necessidade de conter água suficiente na sua constituição de modo a neutralizar a acidez dos monómeros, o que aumenta a probabilidade de degradação da camada híbrida (Perdigão *et al.*, 2013).

A percentagem de água no sistema adesivo também interessa na estabilidade da interface adesiva ao longo do tempo. A diluição da resina por polímeros hidroliticamente instáveis pode levar à exposição de fibras de colagénio na camada híbrida, tornando estes vulneráveis à degradação. Este fenómeno acaba por comprometer a estabilidade da adesão entre a dentina e a resina (Breschi *et al.*, 2008). A incompleta infiltração dos monómeros adesivos na rede de colagénio leva à existência de fibras desprotegidas que estão sujeitas a rutura mecânica sob cargas oclusais (Tjäderhane *et al.*, 2013).

Assim, há uma perda da estabilidade da camada híbrida e uma diminuição da resistência das forças adesivas à dentina, ligada a uma reação hidrolítica tempo-dependente (Tjäderhane *et al.*, 2013).

4.1. Degradação por Enzimas Colagenolíticas

A dentina desmineralizada contém metaloproteinases da matriz (MMP), bem como outras enzimas colagenolíticas da dentina e cisteína-catepsinas que são responsáveis pela degradação do colagénio da camada híbrida (Pashley *et al.*, 2004; Breschi *et al.*, 2010;

Tjäderhane *et al.*, 2013). Na dentina encontram-se as MMP-2, -3, -8, -9 e -20 (Sulkala, *et al.*, 2007; Mazzoni *et al.*, 2007; Boukpepsi *et al.*, 2008; Shimada, Ichinose, Sadr, Burrow & Tagami, 2009), sendo que a presença de algumas destas enzimas foi também detetada em odontoblastos (Perdigão *et al.*, 2013).

A ativação das MMPs da matriz dentinária, expostas por adesivos *self-etch* ou *etch-and-rinse* pode levar à degradação do colagénio presente nas camadas híbridas resultantes da infiltração dos monómeros de resina, encurtando a durabilidade das restaurações (Breschi *et al.*, 2010; Perdigão *et al.*, 2013; Montagner, Sarkis-Onofre, Pereira-Censi & Censi, 2014).

O condicionamento ácido ativa proteases endógenas, outrora “sequestradas” na rede de colagénio, podendo resultar em danos químicos ou mecânicos sobre a camada híbrida, por exposição do local de clivagem do colagénio, facilitando a sua degradação (Tjäderhane *et al.*, 2013). Sabe-se que as fibras de colagénio são inicialmente fragmentadas em segmentos de $\frac{1}{4}$ e $\frac{3}{4}$ pela MMP-8 e seguidamente estes fragmentos são convertidos em péptidos gelatinosos pelas MMP-2 e MMP-9. Assim, as fibras de colagénio insolúveis acabam por ser “solubilizadas”, perdendo-se a continuidade na camada híbrida, o que leva a uma diminuição da retenção dos materiais restauradores e consequente decréscimo da resistência adesiva (Pashley *et al.*, 2011). Estas enzimas exigem a presença de cálcio, que mantém a sua estrutura terciária, e zinco, necessário à atividade catalítica, para a manutenção da sua atividade (Gendron, Grenier, Sorsa & Mayrand, 1999; Pashley *et al.*, 2011).

4.2. Estratégias de Inibição da Degradação da Interface Adesiva

Foram sugeridas ao longo dos tempos diversas atitudes a tomar pelos médicos dentistas no sentido de combater a falha na interface adesiva. Dado que a plastificação dos polímeros resinosos é um fenómeno inerente aos sistemas adesivos, torna-se lógico trabalhar no sentido de preservar a interface adesiva pela manutenção da integridade das fibras de colagénio (Montagner *et al.*, 2014).

A utilização de inibidores específicos de proteínas responsáveis pela degradação do colagénio foi considerada por Pashley *et al.*, em 2004, mas sabe-se que, embora tenham a atividade de inibição desejada, são sais orgânicos tóxicos que não devem ser utilizados rotineiramente. No entanto, tem sido demonstrado que a aplicação de uma solução de clorexidina tem, para além da atividade antimicrobiana já conhecida, a capacidade

benéfica de inativação das MMP, bem como das cisteína-catepsinas (Scaffa *et al.*, 2012; Perdigão *et al.*, 2013)

Validando a informação anterior, em 2005, num estudo *in vivo*, Hebling, Pashley, Tjäderhane & Tay, observaram que a camada híbrida se mantinha íntegra em dentes cuja superfície fosse tratada com clorexidina após o condicionamento ácido, ao contrário do que aconteceu nos dentes nos quais se efetuou o protocolo adesivo normal, que apresentavam desde pequenas zonas de degradação da matriz de colagénio à sua total desintegração. A presença de bactérias não foi condição necessária para a ocorrência deste fenómeno.

Além da clorexidina foram propostos outros inibidores, ainda com necessidade de investigação aprofundada, como a galardina (inibidor sintético), agentes de reticulação (como o glutaraldeído) tetraciclina e seus análogos, sais de amónio quaternário e o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (Pashley *et al.*, 2011; Perdigão *et al.*, 2013). Os agentes de reticulação provocam uma diminuição da mobilidade molecular das MMP, dificultando a sua atuação. Contudo não só não se provaram muito eficazes, como também podem ter um potencial tóxico (Pashley *et al.*, 2011). O EDTA funciona como agente quelante de catiões, como o cálcio e o zinco, chegando a ponderar-se a sua utilização para o condicionamento da superfície, o que, porém, não se revelou viável dado o pouco potencial de desmineralização deste ácido, que necessitaria de vários minutos para a realização de um condicionamento ácido adequado (Pashley *et al.*, 2011). A realização de *wet bonding* com etanol (*ethanol wet bonding*) também tem sido avançada como uma abordagem possível na tentativa de preservação da integridade da camada híbrida (Pashley *et al.*, 2011; Tjäderhane *et al.*, 2013). Esta técnica permite a eliminação da água residual, que pode ser responsável pela degradação dos adesivos, diminuindo o diâmetro das fibras de colagénio, o que permite a infiltração de monómeros adesivos hidrofóbicos nos espaços interfibrilares mais largos, reduzindo a solubilidade da resina. Uma melhor infiltração dos monómeros resinosos pode também dificultar a atuação das MMP (Hosaka *et al.*, 2009; Tjäderhane *et al.*, 2013).

A degradação da camada híbrida pode ainda ser retardada ou mesmo travada, através de outro processo, que consiste na utilização de resinas *flowable* “terapêuticas”. A utilização destas resinas é baseada na sua introdução nas zonas preenchidas por água residual presentes na camada híbrida. (Tjäderhane *et al.*, 2013).

5. Clorexidina

5.1. Estrutura Química

As biguanidas são moléculas usadas como agentes antissépticos em variadas aplicações e especificamente em Medicina Dentária, sendo exemplos de agentes deste grupo farmacológico a clorexidina e a alexidina (Yagiela, Dowd, Johnson, Mariotti & Neidle, 2010). A clorexidina (CHX) é um agente catiónico fungicida e bactericida contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. A sua molécula (Figura 4) é composta por duas estruturas simétricas com quatro anéis aromáticos e dois grupos biguanida, ionizáveis, ligados por uma ponte de hexametileno (Denton, 2001, Carrilho *et al.*, 2010).

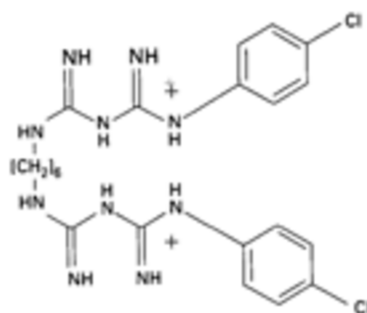


Figura 4 - Estrutura química da CHX (Carrilho *et al.*, 2010)

5.2. Aplicação e Mecanismo de Ação

Em Medicina Dentária, as utilizações mais comuns da CHX consistem na prevenção de lesões de cárie, descontaminação orofaríngea, tratamento endodôntico e como coadjuvante da terapia periodontal (Carrilho *et al.*, 2010). Por ser uma molécula catiónica, a CHX liga-se não especificamente à membrana fosfolipídica bacteriana, carregada negativamente (Puig Silla, Montiel Company, & Almerich Silla, 2008; Carrilho *et al.*, 2010; Varoni, Tarce, Lodi & Carrassi, 2012). A CHX tem um mecanismo de ação dose-dependente (Gendron *et al.*, 1999). A baixas concentrações, tem um efeito bacteriostático por afectar o balanço osmótico, por libertação de potássio e fósforo na célula bacteriana. A altas concentrações a CHX, aumenta a permeabilidade da membrana celular provocando a libertação de compostos como potássio, que vão causar a precipitação das proteínas celulares levando, numa última instância, à morte celular, tendo por isso um efeito bactericida (Puig Silla *et al.*, 2008, Varoni *et al.*, 2012).

Uma propriedade determinante para a eficácia deste antisséptico é a sua substantividade, que se entende como a “capacidade de associação prolongada de um material a um substrato” (Carrilho *et al.*, 2010). A substantividade é uma característica que permite à molécula permanecer ligada aos tecidos e ter uma ação antibacteriana duradoura de cerca de 8h a 12h (Varoni *et al.*, 2012). A CHX tem uma ação bactericida imediata, seguida de uma ação bacteriostática prolongada. Pensa-se que a sua ação antibacteriana seja resultante de uma combinação destas duas, devido à sua capacidade de se ligar à superfície do esmalte (Jenkins, Addy & Wade, 1988) e também da dentina (Carrilho *et al.*, 2010).

5.3. Formulações

Existem diferentes concentrações de CHX disponíveis para uso dentário, que variam consoante o seu modo de aplicação e forma farmacêutica. Na forma de colutório, estas vão de 0,02% a 0,3%. Em concentrações entre 0,02% e 0,06% (baixas) têm um efeito predominantemente bacteriostático. Já em concentrações mais elevadas, ou seja superiores a 0,12%, o seu efeito é bactericida (Varoni *et al.*, 2012). Para além da forma de colutório a CHX está disponível em gel (0,12% a 1%), em spray (0,12% a 0,2%), ou em concentrações mais altas, na forma de verniz (1%, 10% e 40%) (Varoni, *et al.*, 2012). Também existe CHX como irrigante endodôntico, e desinfetante cavitário na formulação de 2% (Mohammadi & Abbott, 2009).

5.4. CHX no Campo da Adesão

Mais recentemente tem-se dado atenção ao potencial da CHX não só como desinfetante, mas também como agente inibidor das MMP, bem como das cisteína-catepsinas, como referido anteriormente. Desde então, sucessivos estudos *in vitro* e *in vivo* comprovaram a sua capacidade de preservação da adesão na interface resina-dente (Hebling *et al.*, 2005; Breschi *et al.*, 2009; Breschi *et al.*, 2010; Carrilho *et al.*, 2010). A CHX na concentração de 0,2% e 2% é comprovadamente benéfica na manutenção da estabilidade da interface adesiva (Carrilho *et al.*, 2010) e não afeta a resistência adesiva após envelhecimento, embora a concentração de 0,2% possa influenciar negativamente a resistência adesiva imediata (Montagner *et al.*, 2014).

Sabe-se que a instrumentação cavitária não garante a remoção de toda a carga bacteriana, podendo conduzir à recidiva da lesão de cárie e induzir inflamação pulpar (Friedman, 1979; Martin, Nadkarni, Jacques & Hunter, 2002). Este antisséptico permite a desinfecção da cavidade, dado o seu amplo espectro de atividade, e é um inibidor potente de algumas MMP, como a MMP -2, - 8 e -9, e também das cisteína-catepsinas anteriormente referidas (Gendron *et al.*, 1999; Yagiela *et al.*, 2010; Scaffa *et al.*, 2012).

Carrilho *et al.*, em 2010, demonstraram que a substantividade da CHX à dentina parcialmente desmineralizada (após sofrer condicionamento ácido) é muito elevada, teorizando que este fenómeno se pode dever ao facto de a CHX se ligar tanto ao colagénio como à dentina mineralizada subjacente. No mesmo estudo, os autores demonstraram que, quando administrada sobre uma superfície de dentina desmineralizada, a interação da CHX ocorre preferencialmente e de uma maneira mais forte com a matéria orgânica do que com a hidroxiapatite, provavelmente devido à carga negativa, o que sustenta a sua atuação sobre as enzimas proteolíticas. Embora a eficácia de várias concentrações de CHX esteja demonstrada (Breschi *et al.*, 2009; Loguercio *et al.*, 2009), pode observar-se benéfica a utilização de concentrações mais elevadas (2%), no sentido de “saturar” os tecidos dentários (Carrilho *et al.*, 2010).

Assim, a CHX excedente poderia ser incorporada nos adesivos dentários ainda não polimerizados, funcionando estes como um reservatório para a libertação prolongada destas moléculas, sendo que se verificou a capacidade de zonas parcialmente desmineralizadas de dentina serem “repovoadas” por CHX (Carrilho *et al.*, 2010). Adicionalmente, está provado com estudos *in vivo* que a aplicação de CHX não influencia negativamente a resistência adesiva imediata, e que esta se mantém ou não diminui significativamente após envelhecimento (6 a 14 meses) (Carrilho *et al.*, 2007; Breschi *et al.*, 2009).

Contudo, apesar das vantagens enunciadas, põe-se a hipótese de a aplicação de CHX ser potencialmente lesiva para as células da polpa, a partir de concentrações bastante diminutas, necessitando de validação através de estudos. Além disso, e apesar das vantagens acima citadas do uso da CHX numa tentativa de preservação da interface adesiva, a sua aplicação acrescenta um passo à técnica adesiva, indo contra as tendências atuais de simplificação (Loguercio *et al.*, 2009). Conclui-se deste modo que deve trabalhar-se no sentido de utilizar a menor concentração possível e de a aplicação ser feita também no mínimo tempo possível (Loguercio *et al.*, 2009).

A CHX pode ser usada como inibidor das MMP sob diversas formas, sendo mais comum a sua aplicação em solução sobre a dentina desmineralizada. Outros tipos de administração de CHX à superfície dentinária são a sua incorporação no gel de ácido ortofosfórico ou na composição do sistema adesivo (Montagner *et al.*, 2014).

6. Avaliação da Resistência Adesiva *in vitro*

A avaliação da resistência adesiva deve ser feita através de testes fiáveis, em condições reprodutíveis, e relativamente fáceis de realizar, quer por serem pouco sensíveis à técnica, quer pelo seu baixo custo (Van Meerbeek *et al.*, 2010). Existem vários métodos para a avaliação da resistência adesiva em laboratório, sendo que o tipo de teste – MACRO ou MICRO – deve ser escolhido de acordo com a área aderida – área igual ou superior a 3mm² ou área inferior ou igual a 1mm² (Van Meerbeek *et al.*, 2010). Para ambos os tipos de teste as forças aplicadas podem ser de tração, cisalhamento e *push-out* (Van Meerbeek *et al.*, 2010; Sirisha, Rambabu, Ravishankar & Ravikumar, 2014)

6.1. Norma ISO/TS 11405:2015

A norma ISO/TS 11405:2015 é um guia para a realização de testes de adesão à estrutura dentária e fornece instruções sobre a seleção da amostra, armazenamento e manuseamento dos dentes, bem como informações essenciais sobre os possíveis testes de quantificação e qualificação da adesão.

6.2. Microtração

Os testes de microtração, desenvolvidos por Sano *et al.*, em 1994, são os mais utilizados na quantificação da resistência adesiva, e são mais fiáveis quando comparados com os testes de macrotração (Van Meerbeek *et al.*, 2010; Sirisha *et al.*, 2014).

Como referido anteriormente, estes testes analisam a resistência adesiva em áreas aderidas inferiores a 1mm² – a amostra testada passa a ser a secção de um dente, em vez de o dente completo (Van Meerbeek *et al.*, 2010).

Os espécimes são fixados a *jigs* metálicos e posteriormente sofrem forças de tração a uma velocidade constante de 0,5-1 mm/min, até ocorrer fratura, registando-se o valor de força, através do qual se calcula a resistência adesiva (Armstrong *et al.*, 2017). A

resistência adesiva (em μ TBS) é então calculada pela razão entre a força aplicada no momento da fratura e a área da interface aderida (Armstrong *et al.*, 2010).

Com uma menor área de interface adesiva há uma melhor distribuição das forças, o que leva a que as fraturas sejam maioritariamente adesivas, em vez de coesivas, permitindo uma avaliação mais correta das forças reais. Com estes testes, os valores de resistência adesiva são também superiores (Sano *et al.*, 1994). Contudo, a preparação de espécimenes a ser submetidos a testes de microtração é sensível à técnica, sendo que estes desidratam facilmente e quebram dada a sua fragilidade. Mesmo após serem submetidos ao teste, os espécimenes podem ser danificados durante a sua remoção dos *jigs*, bem como perdidos dada a sua pequena dimensão (Armstrong *et al.*, 2010)

7. Enquadramento do Estudo

De modo a facilitar a técnica operatória dos procedimentos restauradores adesivos, observa-se uma crescente evolução dos sistemas adesivos, no sentido da sua simplificação e diminuição do número de passos (Anusavice *et al.*, 2013). Também se assiste a uma valorização da adesão química, a acrescer à adesão micromecânica, com a descoberta de monómeros funcionais como o 10-MDP, com ligação à hidroxiapatite. Por outro lado, com os procedimentos adesivos visa-se prolongar a longevidade das restaurações diretas, o que passa pela preservação da camada híbrida, inibindo a degradação da interface adesiva ao longo do tempo. Com o crescente número de sistemas adesivos com a incorporação do monómero 10-MDP, e o uso de pré-tratamentos cavitários como o digluconato de CHX a 2%, torna-se relevante avaliar o efeito da associação destes dois compostos na resistência adesiva imediata dos materiais restauradores ao esmalte e à dentina. Resultados de certos estudos recentes mostram que o tratamento cavitário com CHX poderá ter influência negativa na resistência adesiva quando utilizado em conjunto com sistemas adesivos contendo 10-MDP, ao passo que outros autores reportaram que não existe um efeito prejudicial quando usados em conjunto (Hiraishi, Yiu, King & Tay, 2010; Shafiei, Alikhani, & Alavi, 2013; Wang *et al.*, 2016). Esta investigação pretende analisar a ambiguidade presente na literatura, revelando o papel da CHX nas forças de resistência adesiva a um sistema adesivo *etch-and-rinse* de 3 passos e um *self-etch* contendo 10-MDP.

II. OBJETIVOS DO ESTUDO

Avaliar a resistência adesiva por microtração de uma resina composta ao esmalte e dentina, após a aplicação de CHX, usada em conjunto com um sistema adesivo que contém o monômero funcional 10-MDP.

III. HIPÓTESES DO ESTUDO

Hipótese Nula: A CHX em conjunto com um sistema adesivo *self-etch* com 10-MDP não influencia a resistência adesiva de uma resina composta ao esmalte e à dentina.

Hipótese Alternativa: A CHX em conjunto com um sistema adesivo *self-etch* com 10-MDP influencia a resistência adesiva de uma resina composta ao esmalte e à dentina.

.

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

1. Amostra de estudo

O presente estudo obteve aprovação pela Comissão de Ética do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz (ISCSEM) (Anexo I). Foram selecionados vinte molares humanos extraídos há menos de 6 meses por razões ortodônticas ou periodontais, sem lesões de cárie, fraturas ou restaurações e doados pelo banco de Dentes Humano da Clínica Dentária Universitária Egas Moniz. (Anexo II). Após a sua extração, estes foram lavados com água corrente para eliminar sangue e tecidos que estivessem aderidos e foi feita a remoção de todos os resíduos orgânicos com uma cureta periodontal. Posteriormente, os dentes foram armazenados para desinfecção numa solução de cloramina T 1% a 4°C durante uma semana, de acordo com a norma ISO/TS 11405:2015. Após a sua desinfecção e limpeza, os dentes (Figura 5) foram colocados em água destilada a 4°C, para posterior distribuição pelos grupos experimentais.

Todos os procedimentos experimentais foram executados pelo mesmo operador, num ambiente de temperatura e humidade controladas [$(23 \pm 2) ^\circ\text{C} + \text{HR} (50 \pm 10)$](Armstrong *et al.*, 2017).

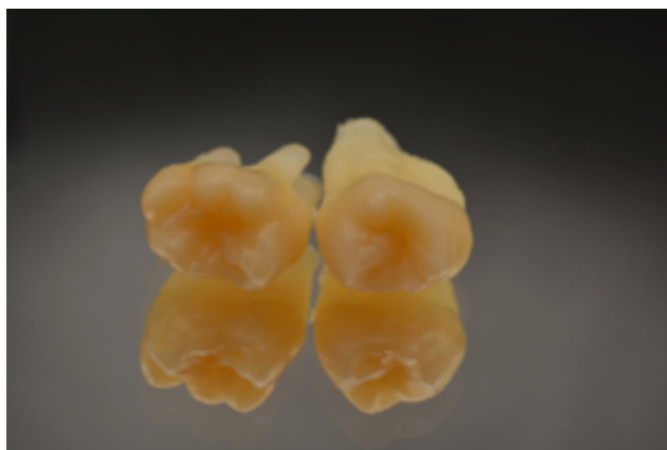



Figura 5 - Imagem exemplificativa da amostra

2. Materiais

Os materiais utilizados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Materiais Utilizados - composição e especificações técnicas

Material	Composição	Lote	Validade	Imagem
Ácido Ortofosfórico (Kerr Corporation, Orange, CA, USA)	Gel de ácido ortofosfórico a 37,5%	6252512	12/2019	
Clorexidina	Digluconato de Clorexidina a 2%			
Clearfil™ SE Bond 2 (Kuraray Noritake Dental Inc., Tokyo, Japan)	<i>Primer:</i> MDP, HEMA, dimetacrilato alifático, canforoquinona, água <i>Bond:</i> MDP, HEMA, Bis-GMA, dimetacrilato hidrofóbico, fotoiniciadores, sílica coloidal, canforoquinona	000041	31/10/2019	
Optibond™ FL (Kerr Corporation, Orange, CA, USA)	<i>Primer:</i> HEMA, GPDM, MMEP, água, etanol, canforoquinona, BHT <i>Bond:</i> Bis-GMA, HEMA, GDMA, canforoquinona, ODMAB, partículas de carga (aprox. 48% de peso)	6271137	08/2018	
Resina Composta Filtek™ Z250 (3M ESPE, St Paul, MN, USA) de cor A2	Bis-GMA, UDMA, bis- EMA, partículas de carga aprox. 60% peso (zircônia e sílica)	N861035	01/2020	

3. Preparação das Amostras

Numa primeira fase os dentes foram colados a um suporte acrílico com cola quente e seccionados nas suas raízes a 2 mm da JAC com um disco diamantado num micrótomoto de tecidos duros (Accutom-50, Struers A/S, Ballerup, Denmark) (Figura 6) sob refrigeração constante de água e a baixa rotação (Figura 7). De seguida, a coroa dentária foi novamente fixada a um suporte de acrílico, e com recurso ao disco diamantado, no micrótomoto de tecidos duros (Accutom-50, Struers A/S, Ballerup, Denmark) efetuou-se um corte perpendicular ao longo eixo do dente, expondo a dentina média dos molares. O tecido pulpar foi extirpado (Figura 8) e a câmara pulpar preenchida com cola de cianoacrilato.

Durante a preparação dos dentes foi mantida a sua hidratação.



Figura 6 – Micrótomoto de tecidos duros – Accutom-50, Struers A/S, Ballerup, Denmark



Figura 7 – Corte dos dentes

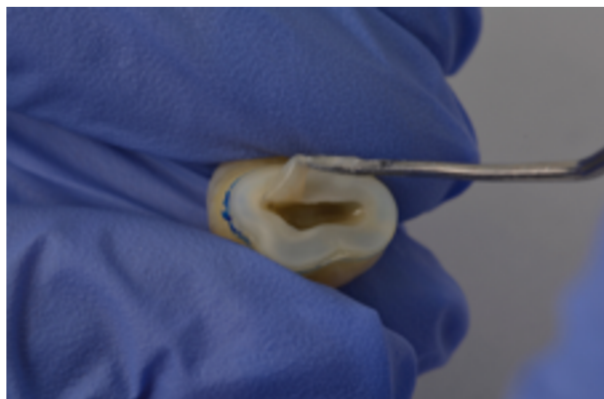


Figura 8 – Remoção dos tecidos da câmara pulpar

De modo a simular-se a *smear layer*, utilizou-se uma lixa de papel de carbeto de silício (SiC), de grão 600 (grão médio) (Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, USA), sob água corrente numa máquina polidora (LabolPol-4, Struers A/S, Ballerup, Denmark) (Figura 9) até à obtenção de uma superfície homogénea e lisa à inspeção visual (Figura 10).



Figura 9 - LabolPol-4, Struers A/S, Ballerup, Denmark

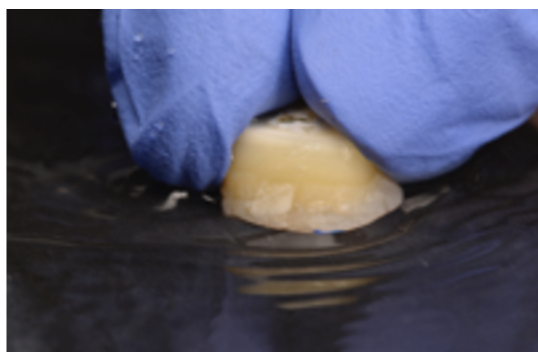


Figura 10 – Simulação da *smear layer*

Os dentes foram aleatoriamente distribuídos por 2 grupos experimentais, de acordo com o sistema adesivo usado [Optibond FL (n=10) ou Clearfil™ SE Bond 2 (n=10)] e cada grupo foi subdividido em 2, de acordo com o pré-tratamento cavitário [Controlo (n=5) e incorporação de CHX (n=5)]:

Grupo OFL: *Etch-and-rinse* (Optibond™ FL) - Instruções do fabricante (Tabela 2) - Testes de microtração (24h)

Grupo OFLC: *Etch-and-rinse* (Optibond™ FL) com CHX (Tabela 3) - Testes de microtração (24h)

Grupo CSE: *Self-etch (Clearfil™ SE Bond 2)* – Instruções do fabricante (Tabela 4) – Testes de microtração (24h)

Grupo CSEC: *Self-etch (Clearfil™ SE Bond 2)* com CHX (Tabela 5) – Testes de microtração (24h)

A preparação dos grupos está ilustrada nas figuras 11 e 12. Imediatamente antes da aplicação do sistema adesivo, os dentes foram lavados em água corrente durante 10 segundos e o excesso de água visível removido com leve jato de ar comprimido isento de contaminação por óleos.

Tabela 2 - Preparação do Grupo OFL – Optibond™ FL

Técnica de Aplicação
<i>Técnica Etch-and-rinse</i>
1) Aplicar ácido fosfórico a 37,5% no esmalte e dentina por 15 segundos; lavar abundantemente por 15 segundos e secar sem desidratar
2) Aplicar <i>primer</i> (frasco 1) no esmalte e dentina durante 15 segundos; secar 5 segundos
3) Aplicar adesivo (frasco 2) sobre esmalte e dentina durante 15 segundos e aplicar levemente ar por 3 segundos
4) Fotopolimerizar 10 segundos

Tabela 3 - Preparação do Grupo OFLC– Optibond™ FL + CHX a 2%

Técnica de Aplicação
<i>Técnica Etch-and-rinse</i>
1) Aplicar ácido fosfórico a 37,5% no esmalte e dentina por 15 segundos; lavar abundantemente por 15 segundos e secar sem desidratar
2) Aplicar a CHX durante 60 segundos em todo o dente; secar com leve jato de ar
3) Aplicar <i>primer</i> (frasco 1) no esmalte e dentina 15 segundos; secar 5 segundos
4) Aplicar adesivo (frasco 2) sobre esmalte e dentina durante 15 segundos e aplicar levemente ar por 3 segundos
5) Fotopolimerizar 10 segundos

Tabela 4 - Preparação do Grupo CSE – Clearfil™ SE Bond 2

Técnica de Aplicação
<i>Técnica Selective Enamel Etching</i>
1) Condicionamento ácido seletivo do esmalte por 15 segundos, lavar abundantemente por 15 segundos e secar sem desidratar*
2) Aplicar <i>primer</i> (frasco 1) no esmalte e dentina e deixar atuar por 20 segundos; secar levemente por mais de 5 segundos
3) Aplicar adesivo (frasco 2) no esmalte e dentina e distribuir uniformemente com recurso a leve jato de ar
4) Fotopolimerizar 10 segundos
*opcional, de acordo com as instruções do fabricante

Tabela 5 - Preparação do Grupo CSEC - Clearfil™ SE Bond 2 + CHX a 2%

Técnica de Aplicação
<i>Técnica Selective Enamel Etching</i>
1) Condicionamento ácido seletivo do esmalte por 15 segundos, lavar abundantemente por 15 segundos e secar sem desidratar*
2) Aplicar a CHX durante 60 segundos em todo o dente; secar com leve jato de ar
3) Aplicar <i>primer</i> (frasco 1) no esmalte e dentina por 20 segundos; secar levemente
4) Aplicar adesivo (frasco 2) no esmalte e dentina e distribuir uniformemente com recurso a leve jato de ar
5) Fotopolimerizar 10 segundos
*opcional, de acordo com as instruções do fabricante

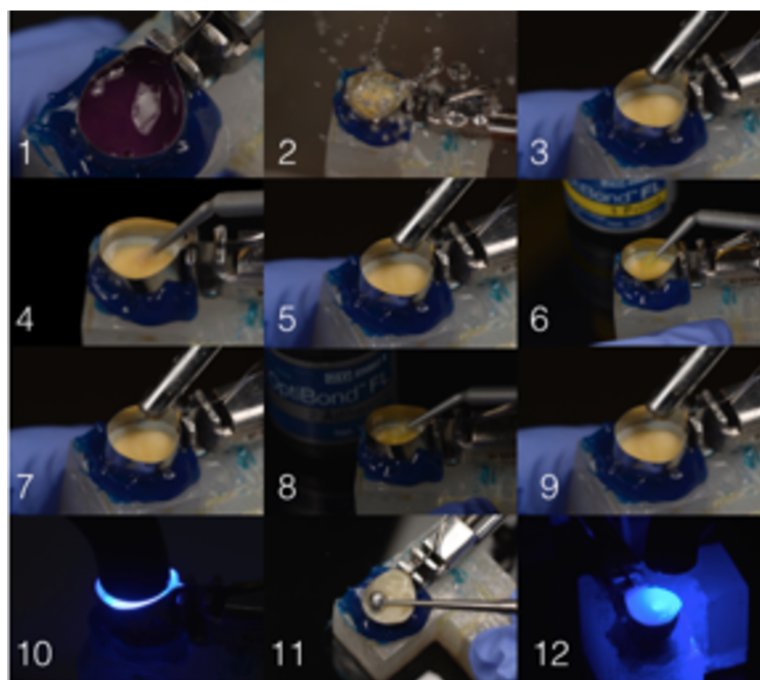


Figura 11 – Protocolo de preparação dos grupos OFL e OFLC

1- condicionamento ácido do esmalte e dentina; 2- lavagem; 3- secagem com leve jato de ar; 4- aplicação de CHX *; 5- secagem com leve jato de ar; 6- aplicação de *primer*; 7- secagem com leve jato de ar; 8- aplicação de adesivo; 9- secagem com leve jato de ar; 10- fotopolimerização do adesivo; 11- aplicação da resina composta; 12- fotopolimerização da resina composta; *apenas para o grupo OFLC

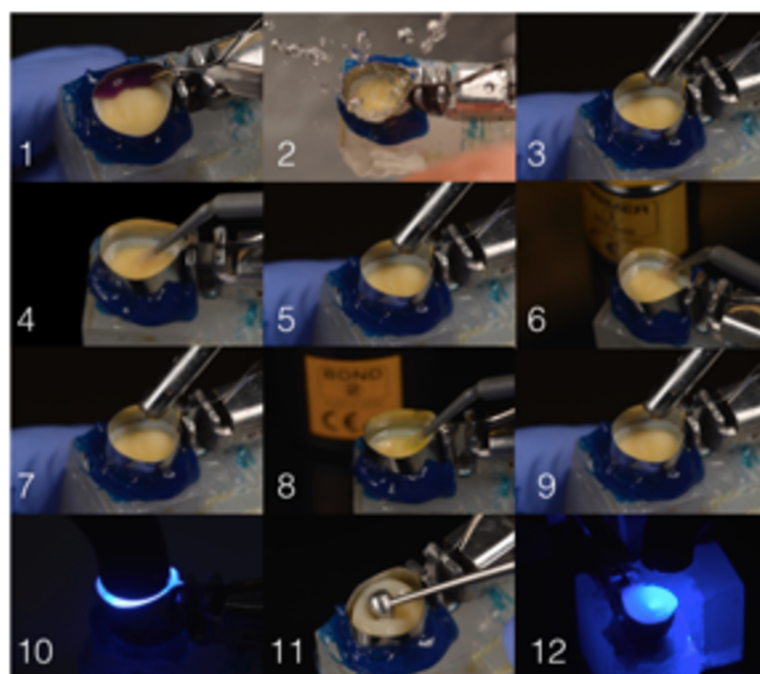


Figura 12 – Protocolo para a preparação dos grupos CSE e CSEC.

1- condicionamento ácido seletivo do esmalte; 2- lavagem; 3- secagem com leve jato de ar; 4- aplicação de CHX *; 5- secagem com leve jato de ar; 6- aplicação de *primer*; 7- secagem com leve jato de ar; 8- aplicação de adesivo; 9- secagem com leve jato de ar; 10- fotopolimerização do adesivo; 11- aplicação da resina composta; 12- fotopolimerização da resina composta; *apenas para o grupo CSEC

Todas as amostras foram restauradas com três incrementos de 2 mm de resina composta, consoante as normas do fabricante (Tabela 6).

O fotopolimerizador utilizado foi o Elipar™ DeepCure S (3M, St. Paul, MN, USA) (Figura 13), que apresenta uma luz LED com uma potência de 1,470 mW/cm² (-10%/+20%), de acordo com o fabricante, e um comprimento de onda entre os 430 nm e os 480 nm.

A intensidade de fotopolimerização foi medida no radiômetro incorporado na unidade de carregamento do fotopolimerizador a cada 5 utilizações, para garantir uma intensidade adequada.



Figura 13 - Fotopolimerizador Elipar™ DeepCure S (3M, St. Paul, MN, USA)

Tabela 6- Instruções do fabricante para a Resina Composta Filtek™ Z250

Técnica de Aplicação
1) Colocar o material restaurador por incrementos até 2mm;
2) Fotopolimerizar durante 20 segundos

Após a preparação, previamente ao corte dos palitos e para sua fácil identificação, a superfície oclusal de cada amostra foi pintada com canetas de acetato de diferentes cores nas áreas correspondentes ao esmalte e à dentina, que foram medidas com régua antes da execução da restauração.

As amostras foram seccionadas no micrótomo de tecidos duros (Accutom-50, Struers A/S, Ballerup, Denmark) com uma lâmina diamantada a baixa velocidade nas direções X e Y, irrigada com água, para a obtenção de palitos com uma secção transversal de $1 \pm 0,2$ mm.

Posteriormente à sua preparação, os palitos foram armazenados em água destilada, numa estufa a $(37 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ (Memmert INE 400, Memmert, Germany)(Figura 14) durante 24h.



Figura 14 - Estufa (Memmert INE 400, Memmert, Germany)

4. Testes de Microtração

Os palitos foram fixados a um *jig* de aço inoxidável de *Geraldeli* com cola de cianocrilato (Zapit, Dental Ventures of America, Corona, CA, USA), de forma a deixar a interface livre de cola.

Cada palito foi testado em tensão, a uma velocidade de 1mm/min numa máquina de testes universal (Shimadzu Autograph AG-IS, Tokyo, Japan) (Figura 15) até ocorrer fratura. Após fratura, e com auxílio de uma craveira, os palitos foram medidos em apenas um dos lados, sendo a área aderida calculada em mm². Como resultado da divisão da força aplicada no momento da fratura (N) pela área de superfície aderida (mm²), obtiveram-se as resistências adesivas (μ TBS), expressas em MPa.

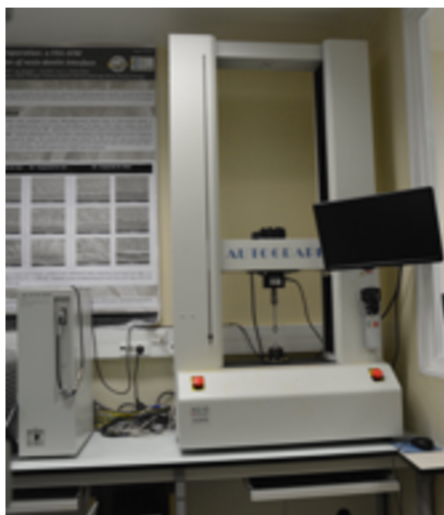


Figura 15 - Máquina de testes universal (Shimadzu Autograph AG-IS, Tokyo, Japan)

Considerou-se como unidade experimental o dente, assumindo-se como cada observação independente no teste de microtração a média dos valores de tensão dos palitos respectivos a cada dente.

Os modos de falha foram analisados com um estereomicroscópio (EMZ-8TR, Meiji Techno Co., Ltd., Saitama, Japan) numa ampliação de 20x, a fim de serem classificados como:

- Falha adesiva, caso a falha tenha ocorrido na interface adesiva
- Falha coesiva, caso a falha se tenha dado exclusivamente na dentina/esmalte ou na resina
- Falha mista, caso tenha conjugado falha adesiva e coesiva

A Figura 16 exemplifica os tipos de falha.



Figura 16 – Ilustração exemplificativa dos tipos de falha: 1-Adesiva; 2- Coesiva de Compósito; 3- Coesiva de Dente; 4-Mista

As falhas coesivas foram registradas, mas descartadas da análise estatística de comparação de microtração. Registrou-se também o número de falhas prematuras, prévias ao teste de microtração e não causadas por erro humano – falhas pré-teste

5. Análise Estatística

Definiu-se um nível de significância $p=0,05$, de modo a aceitar-se ($p \geq 0,05$) a hipótese nula, e o erro tipo II foi fixado a 0,20.

Quantificaram-se os tipos de fratura obtidos em cada grupo e, de seguida, utilizou-se o teste do Qui-Quadrado de Pearson, de modo a verificar a existência ou não de diferença estatisticamente significativa entre a distribuição do tipo de falha e o grupo de teste.

Foram calculadas as médias e desvios padrão dos valores dos testes de microtração (μ TBS) por grupo e efetuado um teste ANOVA *two way*, comparando o sistema adesivo utilizado e a aplicação ou não de CHX. As falhas pré-teste foram incluídas no cálculo das

médias com um valor correspondente a metade do menor valor obtido (μ TBS) no teste de microtração do grupo de teste específico (Armstrong *et al.*, 2017).

A análise estatística foi efetuada com o *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 22.0 para Windows.

V. RESULTADOS

1. Análise da resistência adesiva (μ TBS)

1.1. Análise da resistência adesiva (μ TBS) no esmalte

Fez-se a comparação das médias de resistência adesiva dos grupos, com recurso a um teste ANOVA *two way* no qual não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de esmalte:

A resistência adesiva não difere de modo estatisticamente significativo entre os dois sistemas adesivos, $p=0,381$

A resistência adesiva não difere de modo estatisticamente significativo entre os grupos que utilizam CHX ou não, $p=0,229$

Não se verifica uma correlação estatisticamente significativa entre a utilização, ou não, de CHX e o sistema adesivo, $p=0,428$

Os valores de médias e desvios-padrão de cada grupo estão registados na Tabela 7 e ilustrados na Figura 17.

Tabela 7 - Médias e desvios-padrão dos grupos de esmalte

Grupo	Média (MPa)	Desvio Padrão
Optibond™ FL	22,7679	10,78696
Optibond™ FL + CHX	15,8742	5,28399
Clearfil™ SE Bond 2	17,04	7,16374
Clearfil™ SE Bond 2 + CHX	15,7414	0,80060

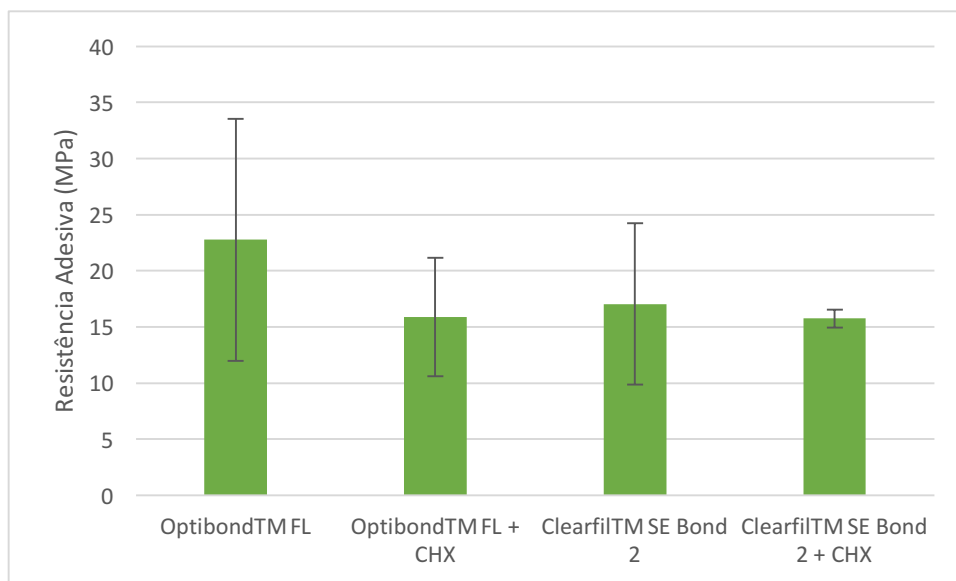


Figura 17 - Médias (MPa) e desvios-padrão dos grupos de esmalte

1.2. Análise da resistência adesiva (μ TBS) na dentina

Após comparação das médias de resistência adesiva dos grupos, com recurso a um teste ANOVA *two way* também neste tecido não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos:

Não existem diferenças estatisticamente significativas nos valores de resistência adesiva entre os sistemas adesivos, $p=0,463$

Não existem diferenças estatisticamente significativas nos valores de resistência adesiva considerando a utilização, ou não, de CHX, $p=0,344$

Não existe uma correlação entre a utilização de CHX e o sistema adesivo utilizado, $p=0,467$

Os valores de médias e desvios-padrão de cada grupo estão registados na Tabela 8 e ilustrados na Figura 18.

Tabela 8 - Médias e desvios-padrão dos grupos de dentina

Grupo	Média (MPa)	Desvio Padrão
Optibond™ FL	32,8798	16,5677
Optibond™ FL + CHX	24,2493	7,27989
Clearfil™ SE Bond 2	25,3737	2,79995
Clearfil™ SE Bond 2 + CHX	24,2171	7,69901

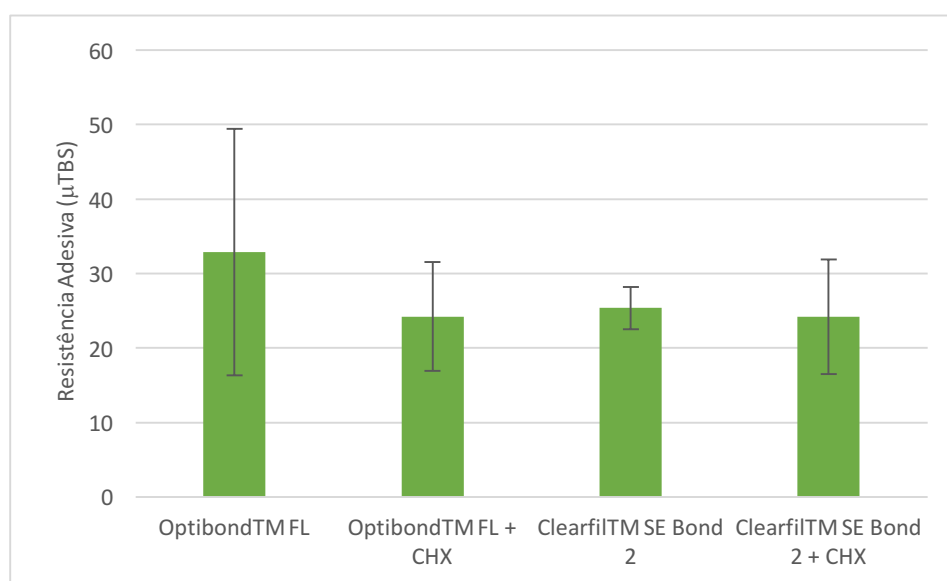


Figura 18 - Médias e desvios-padrão dos grupos de dentina

2. Análise do tipo de fratura obtido

2.1. Análise do tipo de fratura obtido nos grupos de esmalte

As fraturas obtidas foram quantificadas de acordo com o grupo experimental (Tabela 9). Apresentam-se também os gráficos de barras com a percentagem de cada tipo de falha relativamente ao grupo (Figura 19), de modo a facilitar a comparação visual. Verifica-se uma predominância de falhas do tipo adesivo em todos os grupos.

Tabela 9 - Contabilização do tipo de fraturas obtido por grupo – Esmalte; PT: falha pré-teste

	Falha Adesiva	Falha Mista	Falha Coesiva Compósito	Falha Coesiva Dente	Total
Optibond FL PT=3	19	7	4	1	31
Optibond FL + CHX PT=5	19	8	2	7	36
Clearfil SE Bond 2 PT=7	18	15	10	8	51
Clearfil SE Bond 2 + CHX PT=8	22	9	2	7	40

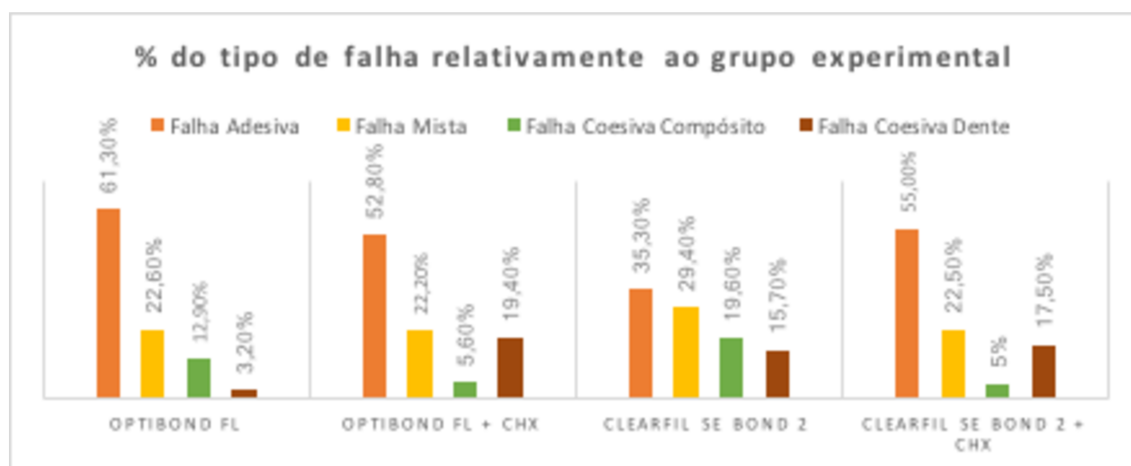


Figura 19 -Porcentagem do tipo de fratura obtido por grupo - Esmalte

Através do teste do Qui-Quadrado (Tabela 10), verificou-se que, para os grupos de esmalte não existe qualquer diferença estatisticamente significativa entre a distribuição dos tipos de fratura obtidos com cada estratégia adesiva, $p= 0,155$. Há, assim, uma distribuição semelhante dos tipos de fratura por grupo experimental.

Tabela 10- Teste do Qui-Quadrado - Esmalte

	Valor	gl	Significância Assintótica (bilateral)
Qui-quadrado de Pearson	13,166	9	0,155
Razão de verossimilhança	14,598	9	0,103
Associação Linear por Linear	1,716	1	0,190
Nº de Casos Válidos	158		

2.2. Análise do tipo de fratura obtido nos grupos de dentina

As fraturas obtidas foram quantificadas de acordo com o grupo experimental (Tabela 11). Na Figura 20 apresenta-se um gráfico de barras com a percentagem de cada tipo de falha relativamente ao grupo, facilitando a comparação visual. Verifica-se novamente uma predominância de falhas do tipo adesivo em todos os grupos.

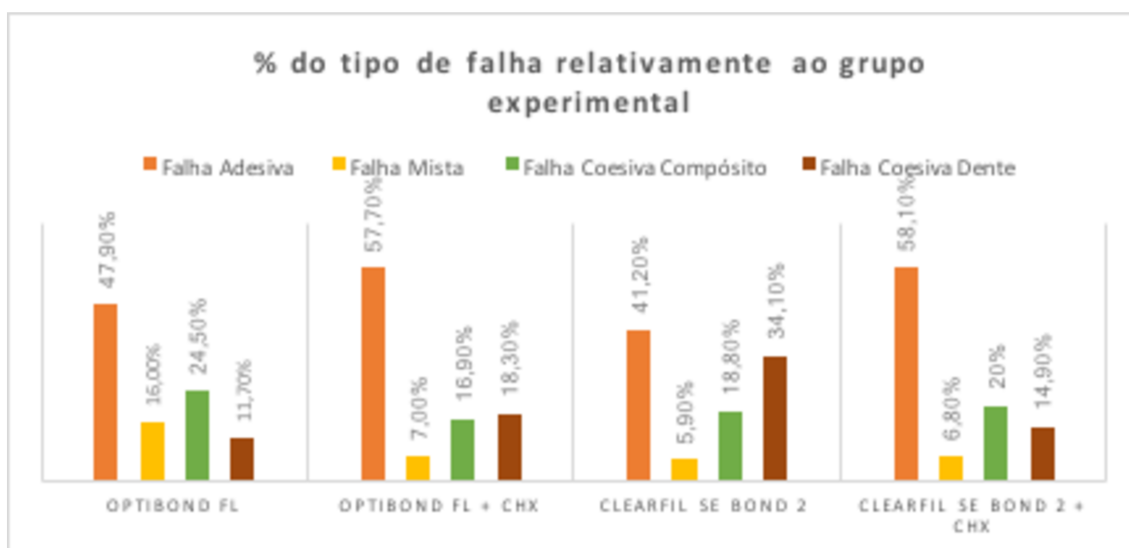


Figura 20- Percentagem do tipo de fratura obtido por grupo – Dentina

Tabela 11 - Contabilização do tipo de fraturas obtido por grupo – Dentina; PT: falha pré-teste

	Falha Adesiva	Falha Mista	Falha Coesiva Compósito	Falha Coesiva Dente	Total
Optibond FL PT=10	45	15	23	11	94
Optibond FL + CHX PT=3	41	5	12	13	71
Clearfil SE Bond 2 PT=7	35	5	16	29	85
Clearfil SE Bond 2 + CHX PT=3	43	5	15	11	74

De novo utilizando o teste do Qui-Quadrado (Tabela 12), verificou-se que, para os grupos de dentina, existe diferença estatisticamente significativa entre a distribuição dos tipos de fratura obtidos com cada estratégia adesiva, $p = 0,005$ ($p < 0,05$).

Tabela 12 - Teste do Qui-Quadrado - Dentina

	Valor	gl	Significância Assintótica (bilateral)
Qui-quadrado de Pearson	28,877	9	0,005
Razão de verossimilhança	22,339	9	0,008
Associação Linear por Linear	0,71	1	0,399
Nº de Casos Válidos	324		

VI. DISCUSSÃO

O presente estudo *in vitro* teve como objetivo avaliar a resistência adesiva de um sistema adesivo à base de 10-MDP, quando utilizado em conjunto com um pré-tratamento cavitário com CHX. Os resultados obtidos levaram a que a hipótese nula seja aceite, sendo que não se verificaram diferenças estatisticamente significativas de resistência adesiva entre os grupos testados, quer em esmalte, quer em dentina.

Os desafios atuais na adesão à estrutura dentária prendem-se especialmente com o substrato dentinário. A dentina tem uma constituição com elevada componente orgânica, o que leva a que a retenção micromecânica, tão forte no esmalte, não ocorra de uma maneira tão eficaz e durável neste tecido dentário (Van Meerbeek *et al.*, 2010). A camada híbrida deveria ser produzida por uma infiltração completa dos monómeros resinosos na matriz de colagénio dentinária, o que não se verifica (Pashley *et al.*, 2011). Consequentemente, esta camada está sujeita a fenómenos de degradação enzimática e hidrolítica (Perdigão *et al.*, 2013). Assim, fazem-se esforços no sentido da criação de uma adesão mais resistente de base e também no da sua preservação, com a introdução de monómeros funcionais que promovam uma adesão química, e pré-tratamentos cavitários que a tornem resistente à degradação. Tendo em conta os fatores enumerados, torna-se pertinente observar a possível interação de sistemas adesivos simplificados, contendo o monómero funcional 10-MDP e o pré-tratamento cavitário mais comum, a CHX (Montagner *et al.*, 2014).

Após uma revisão da literatura disponível sobre este tema, encontrou-se um estudo, conduzido por Wang *et al.*, em 2016, cujo objetivo foi verificar a existência de uma possível influência da utilização de CHX, previamente à de sistemas adesivos à base de 10-MDP. Os resultados obtidos demonstram que não há influência da CHX na resistência adesiva imediata destes sistemas adesivos à dentina.

Costa, em 2014, verificou que um pré-tratamento cavitário com CHX, seguido da utilização de um sistema adesivo à base de 10-MDP (com técnica *etch-and-rinse*) trazia um aumento significativo da resistência adesiva ao esmalte, tendo teorizado que esta vantagem adesiva poderia ser resultado de uma ligação da CHX à hidroxiapatite residual.

Shafiei *et al.*, em 2013, obtiveram valores de resistência adesiva imediata à dentina significativamente inferiores nos grupos em que foi feita a aplicação de CHX previamente

à de um sistema adesivo à base de 10-MDP. Estes autores defendem que poderá ocorrer uma ligação entre a CHX (catiônica) e os íons fosfato (aniônicos) das moléculas de 10-MDP, deixando estes de estar disponíveis para a interação com o cálcio da hidroxiapatite.

A influência desta interação foi estudada quer para o esmalte, quer para a dentina. Em ambiente clínico será de esperar que as margens cavitárias sejam em esmalte e, como tal, um pré-tratamento cavitário que seja introduzido, acabará por ser aplicado também em esmalte e torna-se necessário verificar a existência ou não de alterações na resistência adesiva a este tecido.

No caso dos sistemas adesivos, a adesão química é conseguida através da incorporação de monómeros na sua constituição, que têm grupos funcionais responsáveis pela ligação química à hidroxiapatite (Yoshida *et al.*, 2004; Van Landuyt *et al.*, 2008). Dos monómeros funcionais desenvolvidos, o 10-MDP apresenta resultados de excelência (Van Landuyt *et al.*, 2007), com a sua interação com a hidroxiapatite bem caracterizada (Yoshida *et al.*, 2004; Fukegawa *et al.*, 2006). Este monómero tem uma ligação muito estável com o cálcio da hidroxiapatite pela formação de camadas de cerca de 4 nm de altura, no denominado fenómeno de *nanolayering* (Yoshihara *et al.*, 2010; Yoshihara *et al.*, 2011). A patente do 10-MDP era inicialmente detida pela Kuraray Noritake Dental Inc. (Tokyo, Japan), e esta casa comercial incluiu este monómero em variados sistemas adesivos como o Clearfil™ SE Bond, Clearfil™ SE Bond 2, Clearfil™ Universal. Após o término da patente o monómero tem vindo a ser incorporado nos sistemas adesivos mais recentes de várias marcas, como a 3M ESPE (St. Paul, MN, USA) com o Scotchbond™ Universal, a Bisco Inc. (Schaumburg, IL, USA) com o All Bond™ Universal, e a GC (Tokyo, Japan) (Tsujimoto *et al.*, 2017). A incorporação de 10-MDP permite uma simplificação dos passos clínicos, dado que este monómero tem um potencial desmineralizante e além da já referida capacidade de adesão química (Van Landuyt *et al.*, 2007). Assim, desde que garantido um sucesso clínico equivalente ou superior ao dos sistemas adesivos “convencionais”, torna-se benéfica a utilização de sistemas à base deste monómero. No presente estudo foi utilizado o sistema adesivo Clearfil™ SE Bond 2 (Kuraray Noritake Dental Inc.), que é um sistema adesivo à base de 10-MDP, e foi introduzido como uma versão desenvolvida do Clearfil™ SE Bond (Kuraray Noritake Dental Inc.), com o acrescento de um sistema foto-iniciador (Tsujimoto *et al.*, 2017). Tsujimoto *et al.*, em 2017 verificaram que não existem diferenças estatisticamente significativas nos resultados de resistência adesiva destes dois sistemas, o que os poderá

tornar semelhantes para efeitos de comparação. O monómero funcional deste sistema adesivo tem elevado grau de pureza, o que lhe confere melhores propriedades adesivas do que os monómeros sintetizados por outras marcas comerciais (Yoshihara *et al.*, 2015). Como comparação utilizou-se o sistema adesivo Optibond™ FL, por ser o sistema adesivo ainda hoje considerado o *gold standard*, e que não inclui na sua constituição o monómero funcional em estudo (Loguercio *et al.*, 2014).

No sentido da preservação da interface adesiva a longo prazo propõem-se várias estratégias. A CHX tem um reconhecido efeito antimicrobiano, que pode revelar-se vantajoso na remoção da carga bacteriana residual após a preparação cavitária, ao qual se adiciona um efeito inibidor de proteases que degradam a matriz dentinária (Gendron *et al.*, 1999; Yagiela *et al.*, 2010; Scaffa *et al.*, 2012). Assim, este antisséptico tem sido utilizado como um meio para prolongar a estabilidade da interface adesiva, geralmente em concentrações que se incluem no intervalo de 0,2% a 2%, (Breschi *et al.*, 2009; Carrilho *et al.*, 2010). De todo o modo, a concentração de 2% tem sido amplamente estudada, quer *in vitro*, quer *in vivo*, e tem obtido bons resultados na manutenção da resistência adesiva (Hebling *et al.*, 2005; Carrilho *et al.*, 2007; Campos *et al.*, 2009; Zheng, Zaruba, Attin & Wiegand, 2015). Esta concentração é mais consistente nos bons resultados (Campos *et al.*, 2009) e também se revela vantajosa na manutenção de uma substantividade elevada aos substratos mineralizados (Carrilho *et al.*, 2010), quando comparada com a concentração de 0,2%. Estes fatores tiveram assim um peso na decisão da concentração a utilizar no presente estudo. O protocolo de aplicação de CHX, por 60 segundos após o condicionamento com ácido ortofosfórico ou prévio à aplicação de um *primer* ácido tem sido utilizado em diversos estudos (Carrilho *et al.*, 2007; Campos *et al.*, 2009; Loguercio *et al.*, 2009; Stanislawczuk, Reis & Loguercio, 2011; Shafiei *et al.*, 2013; Zheng *et al.*, 2015).

Para este estudo, como referido atrás, selecionaram-se molares hígidos, extraídos há menos de seis meses, prevenindo-se assim degeneração de proteínas dentinárias que poderá ocorrer após este período. Posteriormente à sua extração, removeram-se os tecidos moles ainda aderidos aos dentes, que de seguida foram armazenados em cloramina tri-hidratada a 1% para desinfeção durante 1 semana. Após este período, foram armazenados em água destilada, a 4°C, trocada a cada duas semanas evitando-se a sua contaminação até ao início do período experimental. Todos os procedimentos supramencionados foram

então realizados de acordo com a norma ISO/TS 11415:2015, permitindo uma padronização do procedimento laboratorial, vantajosa para posterior comparação de resultados entre investigações.

Relativamente à preparação das amostras, após o corte do dente, perpendicularmente ao seu longo eixo para exposição da dentina média, fez-se um polimento com uma lixa de SiC, de 600 grit, de modo a standardizar a *smear layer* produzida, conforme descrito anteriormente por Armstrong *et al.*, em 2004 bem como Scherrer, Cesar & Swain *et al.*, em 2010 e também Loguercio *et al.*, em 2014.

As amostras foram seccionadas para obter palitos, com um máximo de 1mm² de secção transversal, sendo estes posteriormente armazenados por 24h, de acordo com as indicações da *Academy of Dental Materials* para testes *in vitro* (Armstrong *et al.*, 2017). O armazenamento das amostras por 24h, em palitos ou ainda por seccionar, não provoca alterações na resistência adesiva (Toledano *et al.*, 2007).

O teste de microtração dos espécimenes foi efetuado a uma velocidade de 1mm/min, conforme as indicações da mesma academia e de acordo com a prática comum em investigações (Armstrong *et al.*, 2017; Scherrer *et al.*, 2010). Foi verificado por diversas investigações que a velocidade a que o teste de microtração é efetuado não influencia os valores obtidos (Armstrong *et al.*, 2010).

Observando os resultados de resistência adesiva na dentina, obtidos para cada um dos sistemas adesivos, sem a aplicação prévia de CHX (grupos OFL e CSE), verifica-se que o valor de resistência adesiva do Optibond™ FL é semelhante à obtida por Zheng *et al.*, em 2015. Contudo, observa-se inferior ao obtido noutros estudos recentes (Loguercio *et al.*, 2014; Jang *et al.*, 2016; Vermelho, Reis, Ambrosano & Giannini, 2017) e à média dos resultados obtidos por diversos estudos, relatada por Scherrer *et al.*, em 2010. Quanto ao Clearfil™ SE Bond 2, por ser um sistema adesivo muito recente, não foram encontradas publicações que testem a sua resistência adesiva. Apesar deste facto, numa comparação cautelosa com resultados de investigações que utilizaram o sistema original Clearfil™ SE Bond, observa-se que os valores de resistência adesiva obtidos no presente estudo foram também semelhantes aos verificados por Zheng *et al.*, em 2015 e Bueno *et al.*, em 2015. Não obstante, outras investigações relatam valores bastante superiores (Scherrer *et al.*, 2010; Jang *et al.*, 2016).

Tendo em conta os valores de esmalte, nos mesmos grupos (OFL e CSE) os valores obtidos para o Optibond™ FL são também inferiores aos referidos por outras

investigações (Vermelho *et al.*, 2017). Não se encontraram estudos feitos em esmalte que utilizassem o Clearfil™ SE Bond 2, e fez-se de novo uma comparação cuidadosa com o Clearfil™ SE Bond, tendo em conta que há algumas diferenças entre estes sistemas adesivos, verificando-se que os valores de resistência adesiva são também superiores aos obtidos na presente investigação (Brackett *et al.*, 2008; Vermelho *et al.*, 2017).

Observando-se os valores obtidos para os grupos OFLC e CSEC, aqueles em que houve aplicação de CHX, não foram encontrados, até à data, estudos que forneçam valores de resistência adesiva imediata para qualquer um dos sistemas adesivos utilizados no presente estudo. Contudo, para o sistema *self-etch* original (Clearfil™ SE), encontraram-se valores de resistência adesiva imediata superiores aos do presente estudo nas investigações realizadas por Gunaydin, Yazici & Cehreli em 2016 e também por Bueno *et al.*, em 2015.

Dito isto, a comparação de resultados entre estudos diferentes deve sempre ser cautelosa, pois não se verifica uma standardização de protocolos e existe a possibilidade de erro humano (Fernandes, Olini, Nogueira, Silva & Araújo, 2016). Os protocolos seguidos nos estudos mencionados diferem dos da presente investigação em diversos fatores, sendo que a discrepância de valores pode estar relacionada com essas diferenças. Algumas das diferenças observadas entre protocolos incluem a simulação da *smear layer* realizada por menos tempo (10 segundos ou 30 segundos), pelo que esta terá menos espessura, bem como a utilização de outro grão da lixa de SiC (320) ou mesmo outro material (óxido de alumínio) (Brackett *et al.*, 2008; Bueno *et al.*, 2015; Jang *et al.*, 2016; Vermelho *et al.*, 2017). Jang *et al.*, em 2016, utilizaram uma concentração de ácido ortofosfórico de 35%. Houve também diferenças no tempo de aplicação da CHX (30 segundos) e na resina composta utilizada (Filtek™ Z350) (Gunaydin *et al.*, 2016; Vermelho *et al.*, 2017). O método de conservação dos dentes previamente à sua preparação foi o fator que mais variou entre estudos (Timol a 0,5% ou 0,1%, água destilada, ou Cloreto de Sódio a 0,9%) (Brackett *et al.*, 2008; Loguercio *et al.*, 2014; Vermelho *et al.*, 2017). Alguns dos estudos com os quais se efetuaram as comparações não mencionam a abordagem às falhas pré-teste, e outros afirmam não incluir as mesmas na análise, pelo que poderão ter as médias sobrevalorizadas, caso estas não tenham sido incluídas nos testes estatísticos (Brackett *et al.*, 2008; Bueno *et al.*, 2015; Jang *et al.*, 2016; Gunaydin *et al.*, 2016; Vermelho *et al.*, 2017).

A diferença nos resultados obtidos pode também ter sido causada pela inexperiência do operador, havendo uma curva de aprendizagem para a preparação das amostras e obtenção dos espécimes, bem como para a realização do teste de microtração (Adebayo, Burrow & Tyas, 2008; Sirisha *et al.*, 2014). Além disso, sabe-se que há alguma sensibilidade à técnica com os sistemas adesivos *etch-and-rinse*, o que pode justificar os valores mais baixos para o grupo OFL – Optibond™ FL (Sezinando, 2014).

Conforme referido anteriormente, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos testados, no que toca aos valores de resistência adesiva, tanto no esmalte como na dentina.

Os resultados obtidos na dentina vão de encontro aos de diversas investigações, que verificaram que a CHX não influencia a resistência adesiva imediata de diversos sistemas adesivos (De Castro *et al.* 2003; Loguercio *et al.*, 2009; Breschi *et al.*, 2010; Montagner *et al.*, 2014; Bueno *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016). Observando especificamente o seu uso conjunto com sistemas adesivos à base de MDP, também não traz qualquer alteração à resistência adesiva imediata, como ocorreu noutros estudos (Wang *et al.*, 2016; Bueno *et al.*, 2015).

Apesar da ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos estudados, verificou-se uma descida dos valores médios de resistência adesiva nos grupos OFLC e CSEC, quando correlacionados com os grupos OFL e CSE, respetivamente. Esta diferença foi mais acentuada entre os grupos OFL e OFLC, do que entre os grupos CSE e CSEC, que poderá dever-se ao facto de o Clearfil™ SE Bond 2 ser menos sensível à humidade dentinária do que o Optibond™ FL, que demonstrou sê-lo (Amsler, Peutzfeldt, Lussi & Flury, 2015). A presença de água é necessária na constituição dos adesivos *self-etch*, conforme referido anteriormente, o que os torna menos suscetíveis às alterações de humidade no substrato (Sezinando, 2014). A rede de colagénio foi hidratada quer pela lavagem após o condicionamento, quer pela solução aquosa de CHX, o que poderá ter prejudicado a infiltração dos monómeros adesivos.

Ainda assim, apesar desta tendência decrescente dos valores médios de resistência adesiva, esta não se demonstrou estatisticamente significativa, provando-se que o uso de CHX não será prejudicial à resistência adesiva imediata de ambos os sistemas adesivos estudados.

Quanto aos resultados de resistência adesiva obtidos em esmalte, aquando do presente estudo não foram encontradas publicações semelhantes, que permitissem a comparação. Verificou-se uma tendência para uma diminuição do valor médio de resistência adesiva após a aplicação de CHX com ambos os sistemas adesivos, embora não tenha sido observada significância estatística. Num estudo semelhante, não publicado, conduzido por Costa, em 2014, com os sistemas adesivos Optibond™ FL e All Bond Universal™ (contém 10-MDP, utilizado como *etch-and-rinse*), observou-se um aumento nos valores de resistência adesiva, o que parece contrariar os resultados obtidos na presente investigação. Num estudo com objetivos diferentes, Çatalbas, Ercan, Erdemir, Gelgor & Zorba, em 2009, verificaram que a resistência adesiva ao cisalhamento de *brackets* ortodônticos ao esmalte pré-tratado com uma solução de CHX a 2%, diminuía significativamente quando comparada com o protocolo adesivo tradicional. Assim, ressaltando a dissimilaridade entre os estudos, a tendência verificada no presente estudo aproxima-se dos resultados observados por Çatalbas *et al.*, em 2009.

Os valores obtidos no presente estudo necessitam de ser complementados com estudos a longo prazo e testes adicionais, como eletroforese, microscopia eletrónica de varrimento, de modo a verificar a preservação da interface adesiva e a interação entre as duas moléculas (CHX e 10-MDP).

Relativamente aos tipos de falha, em todos os grupos estudados verificou-se uma maioria de falhas adesivas, característica comum aos testes de microtração (Armstrong *et al.*, 2010). Nos grupos de dentina, verificou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os tipos de falha, provavelmente devida a uma maior ocorrência de falhas coesivas de dentina no grupo CSE (Clearfil™ SE Bond 2). Após verificação dos dados, observou-se que esta elevada percentagem será resultado da grande quantidade de falhas deste tipo num dos dentes do grupo. Assim, as falhas serão devidas ao mau estado de preservação do referido dente, provavelmente devido a erro humano. Possivelmente o tempo decorrido entre a montagem dos *jigs* e a realização do teste foi excessivo, ocorrendo desidratação das amostras, ou houve uma eventual contaminação da superfície de dentina com ácido ortofosfórico, enfraquecendo a sua estrutura por sobrecondicionamento.

As falhas coesivas foram descartadas do cálculo das médias, pois não refletem a verdadeira resistência da interface dente-resina, mas sim a do material em questão (resina

ou dente) (Scherrer *et al.*, 2010). As falhas pré-teste foram incluídas no cálculo da média com um valor definido (Armstrong *et al.*, 2017).

A utilização da CHX com um protocolo semelhante ao usado na presente investigação acrescenta uma etapa à sequência clínica habitualmente realizada. De modo a reduzir o tempo dispensado, tem sido considerada a inclusão de CHX nos componentes do sistema adesivo, seja no ácido ortofosfórico, no *primer* ou no próprio *adesivo* (Stanislawczuk *et al.*, 2011; Stanislawczuk *et al.*, 2014). Stanislawczuk e seus colaboradores demonstraram, em 2011, que a administração de CHX posteriormente ao ataque ácido ou usando o ácido como veículo para a sua aplicação eram estratégias igualmente eficazes. Já em 2014, Stanislawczuk *et al.*, testaram a incorporação de várias concentrações de CHX na constituição de sistemas adesivos *etch-and-rinse* de 2 passos. Os resultados obtidos pela referida investigação apontam no sentido de que esta estratégia é vantajosa, com a redução da deterioração e até mesmo preservação completa da união resina-dentina, no período de um ano. Nesse estudo foram avaliadas várias propriedades mecânicas dos adesivos formulados, sem que se verificasse uma redução na sua qualidade com a adição de CHX (Stanislawczuk *et al.*, 2014). Este tipo de abordagens deverá ser devidamente explorado, pois permite adicionar as vantagens que a CHX traz, sem aumentar o número de passos da sequência clínica.

Apesar das vantagens enumeradas, tem-se verificado que a CHX apenas retarda e não impede a degradação da camada adesiva (Montagner *et al.*, 2014). Tal como De Munck *et al.* concluíram em 2009, a infiltração de água na interface adesiva permanece a causa principal da sua degradação e, como tal, a inibição das enzimas proteolíticas acaba por não ser suficiente para manter a integridade da adesão. Noutro estudo, os autores observaram que a CHX era eficaz na manutenção da união compósito-dente por 9 meses, mas o mesmo não se verificou aos 18 meses (Sadek *et al.*, 2010). Pelo contrário, a técnica de *ethanol wet-bonding* provou-se extremamente eficaz na manutenção das forças adesivas (Hosaka *et al.*, 2009; Sadek *et al.*, 2010). Esta técnica preconiza a substituição da totalidade da água presente na rede de colagénio dentinária por etanol (a 100%), o que produz uma matriz mais hidrofóbica e receptiva à infiltração por monómeros resinosos também hidrofóbicos (Hosaka *et al.*, 2009; Sadek *et al.*, 2010). A remoção de água provoca igualmente a retirada de um meio hidrolítico em que as MMP estão ativas. Assim obtém-se uma proteção da interface adesiva, quer contra a degradação hidrolítica, quer

contra a degradação colagenolítica (Sadek *et al.*, 2010). Contudo, esta abordagem acrescenta também um passo clínico, relativamente demorado, pelo que a sua utilização poderá não ser facilmente implementada (Hosaka *et al.*, 2009).

Existem outras estratégias que poderão ser adequadas à preservação da camada adesiva, sendo uma delas a inclusão de monómeros de brometo de 12-metacriloiloxidodecylpiridínio (MDPB) nos sistemas adesivos. O MDPB é um metacrilato de amónio quaternário, polimerizável, que tem, além de propriedades antimicrobianas, a capacidade de inibir enzimas colagenolíticas (Frassetto *et al.*, 2016). Também é sugerida a utilização de agentes de reticulação, como o glutaraldeído, ou extrato de grão de uva, que podem aumentar a resistência adesiva imediata e manter a sua estabilidade, pela inativação das proteases dentinárias (Frassetto *et al.*, 2016). Assim, apesar da generalização do uso da CHX, existem outras estratégias que poderão produzir resultados equivalentes ou melhores, carecendo, contudo, de validação através de investigações *in vitro* e *in vivo* (Montagner *et al.*, 2014; Frassetto *et al.*, 2016)

VII. CONCLUSÃO

Dos resultados obtidos nesta investigação, podemos inferir que a interação da CHX com um sistema adesivo contendo 10-MDP não prejudicará, pelo menos de imediato, a adesão.

Com este estudo pode concluir-se que a resistência adesiva imediata ao esmalte e dentina não difere significativamente entre os sistemas adesivos Optibond™ FL e Clearfil™ SE Bond 2.

Pode deduzir-se também que a aplicação prévia de CHX, não provoca alterações estatisticamente significativas na resistência adesiva imediata de nenhum dos sistemas adesivos, com base nos resultados desta investigação *in vitro*, considerando todas as suas limitações.

1. Relevância Clínica

Sendo a adesão à dentina um desafio ainda nos dias de hoje, a inclusão de estratégias que a melhorem no protocolo adesivo é extremamente pertinente. Além disso, é importante que estas estratégias não reduzam a qualidade da adesão ao esmalte. Com a popularização de sistemas adesivos simplificados, à base de monómeros funcionais, torna-se necessário avaliar as potenciais interações que estes poderão ter com a CHX. A CHX usada como inibidor das MMP demonstrou bons resultados na preservação da resistência adesiva, tanto *in vitro* como *in vivo*, justificando-se o seu uso clínico.

Havendo resultados contraditórios no que toca à interação entre o 10-MDP e a CHX, um estudo neste sentido pôde clarificar que a mesma não é prejudicial e assim permitiu que o protocolo de pré-tratamento cavitário com CHX possa continuar a ser utilizado em conjunto com sistemas adesivos à base de MDP.

2. Perspetivas Futuras

Em investigações futuras será relevante:

Avaliar a resistência adesiva após tratamento da superfície com CHX e aplicação de um sistema adesivo à base de 10-MDP após envelhecimento;

Verificar os efeitos da incorporação de CHX nos componentes do sistema adesivo, nomeadamente em sistemas adesivos à base de 10-MDP, quer na resistência adesiva, quer nas propriedades mecânicas e químicas;

Testar a eficácia de concentrações mais baixas de CHX na preservação da integridade da camada híbrida e da resistência adesiva;

Avaliar alterações morfológicas e químicas da camada híbrida provocadas pela utilização de CHX e sistemas adesivos à base de 10-MDP, através de Microscopia Eletrónica de Varrimento e eletroforese;

Avaliar a resistência adesiva de sistemas adesivos com outros inibidores das MMP e a eficácia dos mesmos na preservação da resistência adesiva a longo prazo;

Avaliar outras técnicas de preservação da união dentina-resina, que não passem apenas pela inibição da degradação enzimática, como o *ethanol wet-bonding*;

VIII. BIBLIOGRAFIA

Adebayo, O. A., Burrow, M. F., & Tyas, M. J. (2008). Bond strength test: role of operator skill. *Aust Dent J*, 53(2), 145-150. doi:10.1111/j.1834-7819.2008.00024.x

Alex, G. (2015). Universal adhesives: the next evolution in adhesive dentistry? *Compend Contin Educ Dent*, 36(1), 15-26; quiz 28, 40.

Amsler, F., Peutzfeldt, A., Lussi, A., & Flury, S. (2015). Bond Strength of Resin Composite to Dentin with Different Adhesive Systems: Influence of Relative Humidity and Application Time. *J Adhes Dent*, 17(3), 249-256. doi:10.3290/j.jad.a34400

Anusavice, K., Shen, C., & Rawls, H. R. (2013). *Phillips' Science of Dental Materials*. Elsevier.

Armstrong, S., Breschi, L., Ozcan, M., Pfefferkorn, F., Ferrari, M., & Van Meerbeek, B. (2017). Academy of Dental Materials guidance on in vitro testing of dental composite bonding effectiveness to dentin/enamel using micro-tensile bond strength (muTBS) approach. *Dent Mater*, 33(2), 133-143. doi:10.1016/j.dental.2016.11.015

Armstrong, S., Geraldeli, S., Maia, R., Raposo, L. H., Soares, C. J., & Yamagawa, J. (2010). Adhesion to tooth structure: a critical review of "micro" bond strength test methods. *Dent Mater*, 26(2), e50-62. doi:10.1016/j.dental.2009.11.155

Armstrong, S., Vargas, M., Chung, I., Pashley, D., Campbell, J., Laffoon, J., & Qian, F. (2004). Resin-Dentin interfacial ultrastructure and microtensile dentin bond strength after 5 year water storage. *Operative Dentistry*, 29(6), 705-712

Brackett, W. W., Tay, F. R., Looney, S. W., Ito, S., Haisch, L. D., & Pashley, D. H. (2008). Microtensile dentin and enamel bond strengths of recent self-etching resins. *Oper Dent*, 33(1), 89-95. doi:10.2341/07-43

Breschi, L., Cammelli, F., Visintini, E., Mazzoni, A., Vita, F., Carrilho, M., . . . Pashley, D. (2009). Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. *J Adhes Dent*, 11(3), 191-198.

Breschi, L., Mazzoni, A., Nato, F., Carrilho, M., Visintini, E., Tjäderhane, L., . . . Pashley, D. H. (2010). Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: A 2-year in vitro study. *Dental Materials*, 26(4), 320-325. doi:10.1016/j.dental.2009.11.153

Breschi, L., Mazzoni, A., Ruggeri, A., Cadenaro, M., Di Lenarda, R., & De Stefano Dorigo, E. (2008). Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater*, 24(1), 90-101. doi:10.1016/j.dental.2007.02.009

Boukpepsi, T., Menashi, S., Camoin, L., Tencate, J., Goldberg, M., & Chaussain-Miller, C. (2008). The effect of stromelysin-1 (MMP-3) on non-collagenous extracellular matrix proteins of demineralized dentin and the adhesive properties of restorative resins. *Biomaterials*, 29(33), 4367-4373. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.07.035

Bueno, M. D., Basting, R. T., Turssi, C. P., França, F. M., & Amaral, F. L. (2015). Effect of 2% chlorhexidine digluconate application and water storage on the bond strength to superficial and deep dentin. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 29(12), 1258-1267. doi:10.1080/01694243.2015.1025463

Campos, E. A., Correr, G. M., Leonardi, D. P., Barato-Filho, F., Gonzaga, C. C., & Zielak, J. C. (2009). Chlorhexidine diminishes the loss of bond strength over time under simulated pulpal pressure and thermo-mechanical stressing. *J Dent*, 37(2), 108-114. doi:10.1016/j.jdent.2008.10.003

Carrilho, M. R., Carvalho, R. M., Sousa, E. N., Nicolau, J., Breschi, L., Mazzoni, A., . . . Pashley, D. H. (2010). Substantivity of chlorhexidine to human dentin. *Dent Mater*, 26(8), 779-785. doi:10.1016/j.dental.2010.04.002

Carrilho, M. R., Geraldini, S., Tay, F., de Goes, M. F., Carvalho, R. M., Tjaderhane, L., . . . Pashley, D. (2007). In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res*, 86(6), 529-533. doi:10.1177/154405910708600608

- Catalbas, B., Ercan, E., Erdemir, A., Gelgor, I. E., & Zorba, Y. O. (2009). Effects of different chlorhexidine formulations on shear bond strengths of orthodontic brackets. *Angle Orthod*, 79(2), 312-316. doi:10.2319/032008-158.1
- Costa, M. C. N. (2014). Influência da Clorexidina na Adesão ao Esmalte. Unpublished Master Dissertation. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Caparica, Portugal.
- de Castro, F. L., de Andrade, M. F., Duarte Junior, S. L., Vaz, L. G., & Ahid, F. J. (2003). Effect of 2% chlorhexidine on microtensile bond strength of composite to dentin. *J Adhes Dent*, 5(2), 129-138.
- De Munck, J., Van den Steen, P. E., Mine, A., Van Landuyt, K. L., Poitevin, A., Opdenakker, G., & Van Meerbeek, B. (2009). Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *J Dent Res*, 88(12), 1101-1106. doi:10.1177/0022034509346952
- Denton, G.W. (2001). Chlorhexidine. In: Block SS, ed. Disinfection, Sterilization, and Preservation.; pp. 321-336.
- Eliades, G., Watts, D. C., & Eliades, T. (2005). Dental Hard Tissues and Bonding: Interfacial Phenomena and Related Properties: Springer
- Erickson, R. L., Barkmeier, W. W., & Latta, M. A. (2009). The role of etching in bonding to enamel: a comparison of self-etching and etch-and-rinse adhesive systems. *Dent Mater*, 25(11), 1459-1467. doi:10.1016/j.dental.2009.07.002
- Feitosa, V. P., Ogliari, F. A., Van Meerbeek, B., Watson, T. F., Yoshihara, K., Ogliari, A. O., . . . Sauro, S. (2014). Can the hydrophilicity of functional monomers affect chemical interaction? *J Dent Res*, 93(2), 201-206. doi:10.1177/0022034513514587
- Fernandes, V. J., Oliani, M., Nogueira, L. J., & Silva, J. (2016). Analysis and Comparison of Different Bond Strength Tests. *JSM Dentistry*, 4(5).

Frassetto, A., Breschi, L., Turco, G., Marchesi, G., Di Lenarda, R., Tay, F. R., . . . Cadenaro, M. (2016). Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability--A literature review. *Dent Mater*, 32(2), e41-53. doi:10.1016/j.dental.2015.11.007

Friedman MM (1979) The qualitative and quantitative bacterial content of stained dentin: an experimental study. *Gen Dent* 27:38– 44

Fukegawa, D., Hayakawa, S., Yoshida, Y., Suzuki, K., Osaka, A., & Van Meerbeek, B. (2006). Chemical interaction of phosphoric acid ester with hydroxyapatite. *J Dent Res*, 85(10), 941-944. doi:10.1177/154405910608501014

Fusayama, T., Nakamura, M., Kurosaki, N., & Iwaku, M. (1979). Non-Pressure Adhesion of a New Adhesive Restorative Resin. *Journal of Dental Research*, 58(4), 1364-1370. doi:10.1177/00220345790580041101

Gendron, R., Grenier, D., Sorsa, T., & Mayrand, D. (1999). Inhibition of the Activities of Matrix Metalloproteinases 2, 8, and 9 by Chlorhexidine. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 6(3).

Goldberg, M., Kulkarni, A. B., Young, M., & Boskey, A. (2011). Dentin: structure, composition and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed)*, 3, 711-735. Hashimoto, M., Nagano, F., Endo, K., & Ohno, H. (2011). *Japanese Dental Science Review*, 47. doi:10.1016/j.jdsr.2010.02.001

Gunaydin, Z., Yazici, A. R., & Cehreli, Z. C. (2016). In Vivo and In Vitro Effects of Chlorhexidine Pretreatment on Immediate and Aged Dentin Bond Strengths. *Oper Dent*, 41(3), 258-267. doi:10.2341/14-231-C

Hashimoto, K., Narita, Y., Miyakita, Y., Ohno, M., Sumi, M., Mayahara, H., . . . Shibui, S. (2011). Comparison of clinical outcomes of surgery followed by local brain radiotherapy and surgery followed by whole brain radiotherapy in patients with single

brain metastasis: single-center retrospective analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 81(4), e475-480. doi:10.1016/j.ijrobp.2011.02.016

Hebling, J., Pashley, D., Tjäderhane, L., & Tay, F. (2005). Chlorhexidine Arrests Subclinical Degradation of Dentin Hybrid Layers in vivo. *Journal of Dental Research*, 84(8), 741-746. doi:10.1177/154405910508400811

Heymann, H., Swift, E. J., Ritter, A. V., & Sturdevant, C. M. (2013). *Sturdevant's art and science of operative dentistry*. St. Louis, Mo: Elsevier/Mosby.

Hilton, T. J., Ferracane, J. L., & Broome, J. C. (2013). *Summitt's fundamentals of operative dentistry: a contemporary approach*. Hanover Park, IL: Quintessence Publishing Co. Inc.

Hiraishi, N., Yiu, C. K., King, N. M., & Tay, F. R. (2010). Chlorhexidine release and antibacterial properties of chlorhexidine-incorporated polymethyl methacrylate-based resin cement. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 94(1), 134-140. doi:10.1002/jbm.b.31633

Hosaka, K., Nishitani, Y., Tagami, J., Yoshiyama, M., Brackett, W. W., Agee, K. A., . . . Pashley, D. H. (2009). Durability of resin-dentin bonds to water- vs. ethanol-saturated dentin. *J Dent Res*, 88(2), 146-151. doi:10.1177/0022034508328910

Ito, S., Hashimoto, M., Wadgaonkar, B., Svizero, N., Carvalho, R. M., Yiu, C., . . . Pashley, D. H. (2005). Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials*, 26(33), 6449-6459. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.04.052

Jang, J. H., Lee, M. G., Woo, S. U., Lee, C. O., Yi, J. K., & Kim, D. S. (2016). Comparative study of the dentin bond strength of a new universal adhesive. *Dent Mater J*, 35(4), 606-612. doi:10.4012/dmj.2015-422

Jenkins, S., Addy, M., & Wade, W. (1988). The mechanism of action of chlorhexidine. A study of plaque growth on enamel inserts in vivo. *J Clin Periodontol*, 15(7), 415-424

Kanca, J., 3rd. (1991). A method for bonding to tooth structure using phosphoric acid as a dentin-enamel conditioner. *Quintessence Int*, 22(4), 285-290.

Kanca, J., 3rd. (1992). Improving bond strength through acid etching of dentin and bonding to wet dentin surfaces. *J Am Dent Assoc*, 123(9), 35-43.

Kidd, E., & Fejerskov, O. (2004). What Constitutes Dental Caries? Histopathology of Carious Enamel and Dentin Related to the Action of Cariogenic Biofilms. *Journal of Dental Research*, 83(1_suppl), 35-38. doi:10.1177/154405910408301s07

Kuhn, E., Farhat, P., Teitelbaum, A. P., Mena-Serrano, A., Loguercio, A. D., Reis, A., & Pashley, D. H. (2015). Ethanol-wet bonding technique: Clinical versus laboratory findings. *Dent Mater*, 31(9), 1030-1037. doi:10.1016/j.dental.2015.05.010

Liu, Y., Tjaderhane, L., Breschi, L., Mazzoni, A., Li, N., Mao, J., . . . Tay, F. R. (2011). Limitations in Bonding to Dentin and Experimental Strategies to Prevent Bond Degradation. *Journal of Dental Research*, 90(8), 953-968. doi:10.1177/0022034510391799

Loguercio, A. D., Luque-Martinez, I., Munoz, M. A., Szesz, A. L., Cuadros-Sanchez, J., & Reis, A. (2014). A comprehensive laboratory screening of three-step etch-and-rinse adhesives. *Oper Dent*, 39(6), 652-662. doi:10.2341/13-236

Loguercio, A. D., Stanislawczuk, R., Polli, L. G., Costa, J. A., Michel, M. D., & Reis, A. (2009). Influence of chlorhexidine digluconate concentration and application time on resin-dentin bond strength durability. *Eur J Oral Sci*, 117(5), 587-596. doi:10.1111/j.1600-0722.2009.00663.x

Marshall, S. J., Bayne, S. C., Baier, R., Tomsia, A. P., & Marshall, G. W. (2010). A review of adhesion science. *Dent Mater*, 26(2), e11-16. doi:10.1016/j.dental.2009.11.157

- Martin FE, Nadkarni MA, Jacques NA, Hunter N (2002) Quantitative microbiological study of human carious dentine by culture and real-time PCR: association of anaerobes with histopathological changes in chronic pulpitis. *J Clin Microbiol* 40:1698–1704
- Mazzoni, A., Mannello, F., Tay, F., Tonti, G., Papa, S., Mazzotti, G., . . . Breschi, L. (2007). Zymographic Analysis and Characterization of MMP-2 and -9 Forms in Human Sound Dentin. *Journal of Dental Research*, 86(5), 436-440. doi:10.1177/154405910708600509
- Mazzoni, A., Pashley, D., Nishitani, Y., Breschi, L., Mannello, F., Tjaderhane, L., . . . Tay, F. (2006). Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials*, 27(25), 4470-4476. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.01.040
- Mohammadi, Z., & Abbott, P. V. (2009). The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J*, 42(4), 288-302. doi:10.1111/j.1365-2591.2008.01540.x
- Montagner, A. F., Sarkis-Onofre, R., Pereira-Cenci, T., & Cenci, M. S. (2014). MMP Inhibitors on Dentin Stability: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Dent Res*, 93(8), 733-743. doi:10.1177/0022034514538046
- Munck, J. D., Meerbeek, B. V., Yoshida, Y., Inoue, S., Vargas, M., Suzuki, K., . . . Vanherle, G. (2003). Four-year Water Degradation of Total-etch Adhesives Bonded to Dentin. *Journal of Dental Research*, 82(2), 136-140. doi:10.1177/154405910308200212
- Nakabayashi, N., Kojima, K., & Masuhara, E. (1982). The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *Journal of Biomedical Materials Research*, 16(3), 265-273. doi:10.1002/jbm.820160307
- Nanci, A. (2013). *Ten Cate's Oral Histology: Development, structure and function*. St. Louis, Missouri: Elsevier Mosby
- Olivi, G., & Olivi, M. (2015). *Lasers in restorative dentistry: a practical guide*. Heidelberg: Springer.

Pashley, D. H. (2005). Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials*, 26(33), 6449-6459. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.04.052

Pashley, D. H. (2009). Durability of resin-dentin bonds to water- vs. ethanol-saturated dentin. *J Dent Res*, 88(2), 146-151. doi:10.1177/0022034508328910

Pashley, D. H., Tay, F. R., Breschi, L., Tjaderhane, L., Carvalho, R. M., Carrilho, M., & Tezvergil-Mutluay, A. (2011). State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater*, 27(1), 1-16. doi:10.1016/j.dental.2010.10.016

Pashley, D. H., Tay, F. R., Carvalho, R. M., Rueggeberg, F. A., Agee, K. A., Carrilho, M., . . . Garcia-Godoy, F. (2007). From dry bonding to water-wet bonding to ethanol-wet bonding. A review of the interactions between dentin matrix and solvated resins using a macromodel of the hybrid layer. *Am J Dent*, 20(1), 7-20.

Pashley, D., Tay, F., Yiu, C., Hashimoto, M., Breschi, L., Carvalho, R., & Ito, S. (2004). Collagen Degradation by Host-derived Enzymes during Aging. *Journal of Dental Research*, 83(3), 216-221. doi:10.1177/154405910408300306

Perdigão, J. (2007). New Developments in Dental Adhesion. *Dental Clinics of North America*, 51(2), 333-357. doi:10.1016/j.cden.2007.01.001

Perdigão, J., & Geraldeli, S. (2003). Bonding characteristics of self-etching adhesives to intact versus prepared enamel. *J Esthet Restor Dent*, 15(1), 32-41; discussion 42.

Perdigão, J., Reis, A., & Loguercio, A. D. (2013). Dentin Adhesion and MMPs: A Comprehensive Review. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 25(4), 219-241. doi:10.1111/jerd.12016

Perdigão, J., & Loguercio, A. D. (2014). Universal or Multi-mode Adhesives: Why and How? *J Adhes Dent*, 16(2), 193-194. doi:10.3290/j.jad.a31871

Perdigão, J., Sezinando, A., & Monteiro, P. (2012) Evaluation of a new universal adhesive using different bonding strategies [abstract]. *J Dent Res*. 2012;91(spec iss A). Abstract 18.

Puig Silla, M., Montiel Company, J. M., & Almerich Silla, J. M. (2008). Use of chlorhexidine varnishes in preventing and treating periodontal disease. A review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 13(4), E257-260.

Sadek, F. T., Braga, R. R., Muench, A., Liu, Y., Pashley, D. H., & Tay, F. R. (2010). Ethanol wet-bonding challenges current anti-degradation strategy. *J Dent Res*, 89(12), 1499-1504. doi:10.1177/0022034510385240

Sano, H., Shono, T., Sonoda, H., Takatsu, T., Ciucchi, B., Carvalho, R., & Pashley, D. H. (1994). Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater*, 10(4), 236-240.

Scaffa, P. M., Vidal, C. M., Barros, N., Gesteira, T. F., Carmona, A. K., Breschi, L., . . . Carrilho, M. R. (2012). Chlorhexidine inhibits the activity of dental cysteine cathepsins. *J Dent Res*, 91(4), 420-425. doi:10.1177/0022034511435329

Scherrer, S. S., Cesar, P. F., & Swain, M. V. (2010). Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: a critical literature review. *Dent Mater*, 26(2), e78-93. doi:10.1016/j.dental.2009.12.002

Sezinando, A. (2014). Looking for the ideal adhesive – A review. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 55(4), 194-206. doi:10.1016/j.rpemd.2014.07.004

Shafiei, F., Alikhani, A., & Asghar Alavi, A. (2013). Effect of chlorhexidine on bonding durability of two self-etching adhesives with and without antibacterial agent to dentin. *Dental Research Journal*, 10(6).

Shimada, Y., Ichinose, S., Sadr, A., Burrow, M., & Tagami, J. (2009). Localization of matrix metalloproteinases (MMPs-2, 8, 9 and 20) in normal and carious dentine. *Australian Dental Journal*, 54(4), 347-354. doi:10.1111/j.1834-7819.2009.01161.x

Sirisha, K., Rambabu, T., Ravishankar, Y., & Ravikumar, P. (2014). Validity of bond strength tests: A critical review-Part II. *J Conserv Dent*, 17(5), 420-426. doi:10.4103/0972-0707.139823

Sulkala, M., Tervahartiala, T., Sorsa, T., Larmas, M., Salo, T., & Tjäderhane, L. (2007). Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Archives of Oral Biology*, 52(2), 121-127. doi:10.1016/j.archoralbio.2006.08.009

Stanislawczuk, R., Reis, A., & Loguercio, A. D. (2011). A 2-year in vitro evaluation of a chlorhexidine-containing acid on the durability of resin-dentin interfaces. *J Dent*, 39(1), 40-47. doi:10.1016/j.jdent.2010.10.001

Stanislawczuk, R., Pereira, F., Munoz, M. A., Luque, I., Farago, P. V., Reis, A., & Loguercio, A. D. (2014). Effects of chlorhexidine-containing adhesives on the durability of resin-dentine interfaces. *J Dent*, 42(1), 39-47. doi:10.1016/j.jdent.2013.11.002

Tjaderhane, L., Nascimento, F. D., Breschi, L., Mazzoni, A., Tersariol, I. L., Geraldeli, S., . . . Pashley, D. H. (2013). Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer-A review. *Dent Mater*, 29(10), 999-1011. doi:10.1016/j.dental.2013.07.016

Toledano, M., Osorio, R., Osorio, E., Aguilera, F. S., Yamauti, M., Pashley, D. H., & Tay, F. (2007). Durability of resin-dentin bonds: effects of direct/indirect exposure and storage media. *Dent Mater*, 23(7), 885-892. doi:10.1016/j.dental.2006.06.030

Tsujimoto, A., Barkmeier, W. W., Takamizawa, T., Watanabe, H., Johnson, W. W., Latta, M. A., & Miyazaki, M. (2017). Comparison between universal adhesives and two-step self-etch adhesives in terms of dentin bond fatigue durability in self-etch mode. *Eur J Oral Sci*, 125(3), 215-222. doi:10.1111/eos.12346

Van Landuyt, K. L., Mine, A., De Munck, J., Jaecques, S., Peumans, M., Lambrechts, P., & Van Meerbeek, B. (2009). Are one-step adhesives easier to use and better performing? Multifactorial assessment of contemporary one-step self-etching adhesives. *J Adhes Dent*, 11(3), 175-190.

Van Landuyt, K. L., Snauwaert, J., De Munck, J., Peumans, M., Yoshida, Y., Poitevin, A., . . . Van Meerbeek, B. (2007). Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*, 28(26), 3757-3785. doi:10.1016/j.biomaterials.2007.04.044

Van Landuyt, K. L., Yoshida, Y., Hirata, I., Snauwaert, J., De Munck, J., Okazaki, M., . . . Van Meerbeek, B. (2008). Influence of the chemical structure of functional monomers on their adhesive performance. *J Dent Res*, 87(8), 757-761. doi:10.1177/154405910808700804

Van Meerbeek, B., De Munck, J., Yoshida, Y., Inoue, S., Vargas, M., Vijay, P., . . . Vanherle, G. (2003). Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*, 28(3), 215-235.

Van Meerbeek, B., Peumans, M., Poitevin, A., Mine, A., Van Ende, A., Neves, A., & De Munck, J. (2010). Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dental Materials*, 26.

Van Meerbeek, B., Yoshihara, K., Yoshida, Y., Mine, A., De Munck, J., & Van Landuyt, K. L. (2011). State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater*, 27(1), 17-28. doi:10.1016/j.dental.2010.10.023

Varoni, E., Tarce, M., Lodi, G., & Carrassi, A. (2012). Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art. *Minerva Stomatol*, 61(9), 399-419.

Vermelho, P. M., Reis, A. F., Ambrosano, G. M. B., & Giannini, M. (2017). Adhesion of multimode adhesives to enamel and dentin after one year of water storage. *Clin Oral Investig*, 21(5), 1707-1715. doi:10.1007/s00784-016-1966-1

von Fraunhofer, J. A. (2012). Adhesion and cohesion. *Int J Dent*, 2012, 951324. doi:10.1155/2012/951324

Wang, L., Agulhari, M., Brianezzi, L., Giacomini, M., Velo, M., Scaffa, P., . . . Furuse, A. (2016). Interaction of chlorhexidine with MDP-based dentin bonding systems. *Dental Materials*, 32. doi:10.1016/j.dental.2016.08.105

Yagiela, J., Dowd, F., Johnson, B., Mariotti, A., & Neidle, E. (2010). *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry* (6th edition ed.): Mosby.

Yoshida, Y., Nagakane, K., Fukuda, R., Nakayama, Y., Okazaki, M., Shintani, H., . . . Van Meerbeek, B. (2004). Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res*, 83(6), 454-458. doi:10.1177/154405910408300604

Yoshida, Y., Van Meerbeek, B., Nakayama, Y., Yoshioka, M., Snauwaert, J., Abe, Y., . . . Okazaki, M. (2001). Adhesion to and decalcification of hydroxyapatite by carboxylic acids. *J Dent Res*, 80(6), 1565-1569. doi:10.1177/00220345010800061701

Yoshihara, K., Nagaoka, N., Okihara, T., Kuroboshi, M., Hayakawa, S., Maruo, Y., . . . Van Meerbeek, B. (2015). Functional monomer impurity affects adhesive performance. *Dent Mater*, 31(12), 1493-1501. doi:10.1016/j.dental.2015.09.019

Yoshihara, K., Yoshida, Y., Hayakawa, S., Nagaoka, N., Irie, M., Ogawa, T., . . . Van Meerbeek, B. (2011). Nanolayering of phosphoric acid ester monomer on enamel and dentin. *Acta Biomater*, 7(8), 3187-3195. doi:10.1016/j.actbio.2011.04.026

Yoshihara, K., Yoshida, Y., Nagaoka, N., Fukegawa, D., Hayakawa, S., Mine, A., . . . Van Meerbeek, B. (2010). Nano-controlled molecular interaction at adhesive interfaces for hard tissue reconstruction. *Acta Biomater*, 6(9), 3573-3582. doi:10.1016/j.actbio.2010.03.024

Zheng, P., Zaruba, M., Attin, T., & Wiegand, A. (2015). Effect of different matrix metalloproteinase inhibitors on microtensile bond strength of an etch-and-rinse and a self-etching adhesive to dentin. *Oper Dent*, 40(1), 80-86. doi:10.2341/13-162-L

ANEXOS

Anexo I

Comissão de Ética



Proc. Interno nº 543

Ex.ma Senhora
Teresa Mantero Pinheiro de Melo

Monte de Caparica, 15 de fevereiro de 2017.

Ex.ma Senhora,

Venho comunicar-lhe que o Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado **“Análise da resistência adesiva de uma resina composta ao esmalte e dentina com e sem clorexidina e com e sem 10-MDP”**, foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Prof^a. Doutora Maria Fernanda de Mesquita

EGAS MONIZ – COOPERATIVA DE ENSINO SUPERIOR, CRL
Campus Universitário – Quinta da Granja – Monte de Caparica
2829-511 Caparica

Efeito da aplicação de clorexidina e 10-MDP na resistência adesiva de uma resina composta ao esmalte e dentina

Anexo II



**Declaração da Direção Clínica para cedência de dentes do
BDH para realização do trabalho de projeto final do
Mestrado Integrado de Medicina Dentária**

Código IMP.CDEM.04_00

IDENTIFICAÇÃO DO ESTUDANTE: TERESA MANTERO PINHEIRO DE MELO (110039)

TÍTULO DO TRABALHO: ANÁLISE DA RESISTÊNCIA ADESIVA DE UMA RESINA
COMPOSTA AO ESMALTE E DENTINA COM E SEM CLOREXIDINA E
COM E SEM 10-MDP

Excelentíssima Professora Doutora Fernanda de Mesquita - Presidente da Comissão de Ética,

O(a) aluno(a) Teresa Mantero Pinheiro de Melo pode utilizar dentes mdares
do Banco de Dentes Humanos (BDH) da Clínica Dentária Universitária Egas Moniz (CDUEM).

Aguardo a aprovação da Comissão Científica e da Comissão de Ética, para cedência dos dentes.

Atenciosamente, com os melhores cumprimentos

Monte da Caparica, fevereiro de 2017

Direção Clínica

Efeito da aplicação de clorexidina e 10-MDP na resistência adesiva de uma resina composta ao esmalte e dentina